ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ



# Επίδραση υψηλών θερμοκρασιών στο μεταβολισμό εκτρεφόμενων ειδών ψαριών: συνδυάζοντας πειραματική προσέγγιση και μαθηματική μοντελοποίηση

Ορέστης Σταυρακίδης Ζάχου

Διδακτορική Διατριβή Ηράκλειο, 2022 Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Μαθηματικής Βιολογίας του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, και στο Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών (Ι.ΘΑ.Β.Β.ΥΚ.) του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών (ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.) σε συνεργασία με το εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

### Επιβλέποντες

Λύκα Κωνσταντία (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Κρήτης) Παπανδρουλάκης Νίκος (Διευθυντής Ερευνών, ΕΛΚΕΘΕ)

### Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λύκα Κωνσταντία (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Κρήτης) Παπανδρουλάκης Νίκος (Διευθυντής Ερευνών, ΕΛΚΕΘΕ) Παυλίδης Μιχαήλ (Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Κρήτης)

### Επταμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λύκα Κωνσταντία (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Κρήτης) Παπανδρουλάκης Νίκος (Διευθυντής Ερευνών, ΕΛΚΕΘΕ) Παυλίδης Μιχαήλ (Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Κρήτης) Κεντούρη Μαρουδιώ (Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Κρήτης) Μούτου Αικατερίνη (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας) Στεργίου Κωνσταντίνος (Καθηγητής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης) Αντωνοπούλου Ευθυμία (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης)





# Ευχαριστίες

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας (Πανεπιστήμιο Κρήτης) Κωνσταντίας Λύκα και του Διευθυντή Ερευνών (ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε) Νίκου Παπανδρουλάκη. Τους ευχαριστώ βαθύτατα για την καθοδήγησή τους η οποία ήταν καθοριστική τόσο για την εκπόνηση της διατριβής όσο και την εξέλιξη της σκέψης μου στο δύσκολο δρόμο της έρευνας. Τους ευχαριστώ όμως και για τις φιλικές συμβουλές τους, την υλική και ψυχολογική στήριξη, και κυρίως την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ επίσης θερμά το τρίτο μέλος της συμβουλευτικής μου επιτροπής Καθηγητή (Πανεπιστήμιο Κρήτης) Μιχάλη Παυλίδη για τον σημαντικό του ρόλο στην εκπόνηση της διατριβής, την εποικοδομητική κριτική του, τις συμβουλές καθώς και την έμπρακτη υποστήριξή του κατά την υλοποίηση των αναλύσεων που γίναν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων και τη χρήση των μεταβολικών θαλάμων. Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα να εκφράσω και τις ευχαριστίες μου στα μέλη του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Ιχθύων, Θανάση Σαμαρά, Αλέκα Τσαλαφούτα, και Ελευθερία Φανουράκη για την πρακτική τους βοήθεια στις αιματολογικές, βιοχημικές, και μοριακές αναλύσεις.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της επταμελούς επιτροπής, συγκεκριμένα τις κυρίες Μαρουδιώ Κεντούρη, Αικατερίνη Μούτου, και Ευθυμία Αντωνοπούλου καθώς και τον κύριο Κων/νο Στεργίου για την προθυμία τους να συμμετάσχουν στη διαδικασία αξιολόγησης της διατριβής μου και για τα εποικοδομητικά τους σχόλια τα οποία βελτίωσαν την ποιότητα του τελικού κειμένου.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον Διευθυντή Ερευνών (ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε) Σταύρο Χατζηφώτη για την παροχή του εξοπλισμού και τις υποδείξεις του όσον αφορά την πραγματοποίηση των αναλύσεων σωματικής σύστασης καθώς και τα μέλη της ομάδας του Μαρία Μαστοράκη και Λυδία Κατσίκα για την πρακτική τους βοήθεια στην επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων.

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, και όχι μόνο, σημαντικό ρόλο είχαν οι τεχνικοί των Aqualabs Παναγιώτης Αναστασιάδης, Γιώργος Στρακαντούνας, Μανώλης Βασιλάκης, Ευσεβεία Σφακάκη, και Στέλιος Στεφανάκης τους οποίους και ευχαριστώ θερμά. Ιδιαίτερα ευχαριστώ το Νίκο Μητριζάκη για την πολύτιμη, άνευ ωραρίου, βοήθειά του σε πρακτικά ζητήματα, τη φιλία του, και την άψογη συνεργασία.

Ανεκτίμητη ήταν και η υποστήριξη της Ελένης Λιβάνου του εργαστηρίου Μαθηματικής Βιολογίας σε ζητήματα μαθηματικής μοντελοποίησης και προγραμματισμού την οποία και ευχαριστώ θερμά για την ουσιαστική βοήθειά της, τις ιδέες της, το φιλικό κλίμα, και την καλή συνεργασία.

Ακόμα, να ευχαριστήσω τους συνεργάτες, φίλους, και συνοδοιπόρους Δήμητρα Γεωργοπούλου, Δημήτρη Βοσκάκη, Χαράλαμπο Βουιδάσκη, Chiara Cascarano, και Μαριάννα Τσέρτου για την ευχάριστη καθημερινότητα, το γέλιο και τις εποικοδομητικές συζητήσεις.

Τέλος, το πιο θερμό ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένεια μου για τα ερεθίσματα και εφόδια που μου δώσαν, την ανυπολόγιστη υποστήριξή τους, και την αγάπη τους όλα αυτά τα χρόνια.

# Περίληψη

Η θερμοκρασία αποτελεί ένα σημαντικό περιβαλλοντικό παράγοντα για τα ψάρια καθώς επηρεάζει τον μεταβολισμό τους και καθορίζει ένα μεγάλο σύνολο συμπεριφορικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών τους. Σύμφωνα με τα κοινωνικο-οικονομικά σενάρια της Διακυβερνητικής Επιτροπής για την Κλιματική Αλλαγή (IPCC), η μέση παγκόσμια θερμοκρασία των θαλασσών αναμένεται να αυξηθεί κατά αρκετούς βαθμούς μέχρι το τέλος του αιώνα, μια τάση που προβλέπεται να είναι εντονότερη για τη Μεσόγειο καθώς έχει χαρακτηριστεί ως μια ιδιαίτερα ευάλωτη περιοχή στην κλιματική αλλαγή. Υπό αυτό το πρίσμα, καθίσταται σαφής η ανάγκη μελέτης αλλά και πρόβλεψης των θερμικών αποκρίσεων και των θερμικών ορίων των οργανισμών που διαβιούν σε αυτή, ιδιαιτέρως αν αποτελούν είδη με σημαντικό εμπορικό ενδιαφέρον, όπως τα είδη υδατοκαλλιέργειας. Η παρούσα διατριβή επικεντρώνεται στη μελέτη της επίδρασης υψηλών θερμοκρασιών στο μεταβολισμό δύο εκτρεφόμενων ψαριών μεγάλου ενδιαφέροντος για τη Μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια, του λαβρακιού (Dicentrarchus labrax) και του κρανιού (Argyrosomus regius). Επειδή μια ολοκληρωμένη προσέγγιση προετοιμασίας και αντιμετώπισης των μελλοντικών προκλήσεων απαιτεί τόσο την κατανόηση των αποκρίσεων των οργανισμών στη θερμική καταπόνηση όσο και την ανάπτυξη κατάλληλων εργαλείων, όπως μαθηματικά μοντέλα, που επιτρέπουν την περαιτέρω μελέτη αλλά και την πραγματοποίηση προβλέψεων, υιοθετήθηκε εδώ ένας συνδυασμός πειραματικών προσεγγίσεων και μαθηματικής μοντελοποίησης.

Στόχος της πειραματικής προσέγγισης ήταν ο προσδιορισμός των θερμικών ορίων ανοχής των δυο ειδών κάτω από συνθήκες χρόνιας και οξείας θερμικής καταπόνησης. Τα κύρια ερωτήματα επικεντρώνονται στη μελέτη των φυσιολογικών τους αποκρίσεων στην αύξηση της θερμοκρασίας, στις επιπτώσεις στο επίπεδο ολόκληρου του οργανισμού και στις συνολικές του επιδόσεις, και στον προσδιορισμό των θερμικών ορίων ανοχής κάτω από συνθήκες χρόνιας και οξείας θερμικής καταπόνησης. Όσον αφορά τη μαθηματική μοντελοποίηση, στόχος ήταν η διερεύνηση των σχέσεων που συνδέουν τη θερμοκρασία με το μεταβολισμό των δύο ειδών και η προσομοίωση των μεταβολικών διεργασιών υπό το ενιαίο βιοενεργητικό πλαίσιο της θεωρίας Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου (DEB). Η θεωρία DEB περιγράφει τον μεταβολισμό των οργανισμών χρησιμοποιώντας ισοζύγια ενέργειας και μάζας και μπορεί να προσομοιώσει μεταβολές σε βασικές βιολογικές διεργασίες όπως η αύξηση, η ανάπτυξη, η αφομοίωση ενέργειας, η διατήρηση στη ζωή, η γενετική ωρίμανση και η αναπαραγωγή συναρτήσει θερμοκρασίας και διαθεσιμότητας τροφής κάτω από δυναμικά μεταβαλλόμενα περιβάλλοντα.

Κατά την πειραματική προσέγγιση μελετήθηκε η θερμική καταπόνηση σε χρονικές κλίμακες και εντάσεις που έχουν άμεση συνάφεια με τη μελέτη της κλιματικής αλλαγής. Διερευνήθηκαν τρείς θερμοκρασίες εγκλιματισμού αντιπροσωπεύοντας τις τυπικές (24 °C), μέγιστες (28 – 29 °C), και προβλεπόμενες υπό σενάρια κλιματικής αλλαγής (33 – 34 °C) καλοκαιρινές θερμοκρασίες στη Μεσόγειο και μελετήθηκαν οι αποκρίσεις των ψαριών σε ένα σύνολο βιοδεικτών που περιλάμβαναν ζωοτεχνικές παραμέτρους αλλά και αιματολογικούς, βιοχημικούς, ορμονικούς, και μοριακούς δείκτες καθώς και τη μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού, και τον προσδιορισμό της Μέγιστης Κρίσιμης Θερμοκρασίας κατά την πρόκληση οξείας θερμικής καταπόνησης. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν παρόμοια πρότυπα απόκρισης για τα δύο είδη και παραπλήσια ανώτατα όρια ανοχής στη χρόνια θερμική καταπόνηση, με κάποιες ποσοτικές ωστόσο διαφορές μεταξύ των ειδών. Η βέλτιστη θερμοκρασία αύξησης του λαβρακιού και του κρανιού τοποθετήθηκε μεταξύ των 24 και 29 °C, με αυτή του κρανιού να βρίσκεται εγγύτερα του κατώτερου άκρου του εύρους. Πλήθος βιοδεικτών όπως δείκτες αναερόβιου μεταβολισμού (γαλακτικό οξύ), προστατευτικοί μηχανισμοί (πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος, αντιοξειδωτικά) και δείκτες καταπόνησης (κορτιζόλη) υποδεικνύουν μέσα επίπεδα θερμικής καταπόνησης σε ενδιάμεσες θερμοκρασίες (28 – 29 °C) ενώ χρόνια έκθεση σε θερμοκρασίες πέραν των παραπάνω δεν είναι βιώσιμη για την εκτροφή των ειδών καθώς έχει δραματικές συνέπειες στις επιδόσεις και την υγεία των ψαριών με ραγδαία επιδείνωση των φυσιολογικών τους δεικτών. Επιπλέον, τα ανώτερα όρια επιβίωσης εμφανίζονται συντηρημένα για τα δύο είδη σε ένα εξαιρετικά στενό θερμοκρασιακό εύρος κοντά στους 33 °C ενώ η ερμηνεία των συνολικά μειωμένων βιολογικών επιδόσεων κατά την προσέγγιση αυτών των ορίων εντοπίζεται κυρίως στην ανεπαρκή ικανότητα για αερόβιο μεταβολισμό όπως αποτυπώνεται και από τη μελέτη του μεταβολικού ρυθμού, την ανάπτυξη μεγαλοκαρδίας, και την αύξηση δεικτών αναερόβιου μεταβολισμού. Τέλος, τα δύο είδη εμφανίζουν αξιοσημείωτη ανοχή σε οξεία θερμική καταπόνηση, με αυτή του λαβρακιού ωστόσο να είναι μεγαλύτερη, υποδηλώνοντας ότι φέρουν σημαντική ικανότητα απόκρισης σε επεισόδια ακραίων καιρικών φαινομένων, όπως καύσωνες.

Αναφορικά με τη μαθηματική μοντελοποίηση, αναπτύχθηκαν DEB μοντέλα για τα δύο είδη χρησιμοποιώντας για την παραμετροποίηση τους βιβλιογραφικά αλλά και πειραματικά δεδομένα της παρούσας διατριβής. Τα μοντέλα στη συνέχεια επαληθεύτηκαν με σύγκριση των προβλέψεων τους με μετρήσεις πεδίου. Αναπτύχθηκαν επίσης οι μαθηματικές εξισώσεις για την πρόβλεψη της σωματικής σύστασης καθώς και μια προσέγγιση προσομοίωσης των ανώτατων θερμικών ορίων κατά την πρόκληση οξείας θερμικής καταπόνησης. Η καλή προσαρμογή των μοντέλων στα δεδομένα έδειξε ότι οι θερμικές αποκρίσεις των δύο ειδών τόσο όσον αφορά την αύξησή τους όσο και τις μεταβολές στα ενεργειακά τους αποθέματα μπορούν να περιγραφούν ικανοποιητικά από ένα μηχανιστικό πλαίσιο που ερμηνεύει τον μεταβολισμό ως ισοζύγια ενέργειας και μάζας. Επιπλέον, η σύγκριση των βιοενεργητικών ισοζυγίων των δύο ειδών έδειξε διαφορές στις ενεργειακές στρατηγικές τους με το λαβράκι να κατανέμει μεγαλύτερο μέρος του ισοζυγίου του σε διαδικασίες γενετικής ωρίμανσης και αναπαραγωγής καθώς και σε διεργασίες διατήρησης, κάτι που μπορεί να ερμηνεύσει τους μεγαλύτερους αυξητικούς ρυθμούς που παρατηρούνται στον κρανιό. Επιπρόσθετα, ανάλυση των παραμέτρων των μοντέλων έδειξε ότι κάποιες και ειδικότερα αυτές που αντικατοπτρίζουν την ικανότητα αφομοίωσης ενέργειας από το περιβάλλον και το κόστος σωματικής διατήρησης, συσχετίζονται με τη βέλτιστη θερμοκρασία κάνοντας έτσι εφικτές συγκρίσεις της θερμικής ευαισθησίας μεταξύ ειδών. Τέλος, προσομοιώσεις οξείας θερμικής καταπόνησης έδειξαν ότι παραδοχές βασισμένες σε θερμοδυναμικούς περιορισμούς μπορούν να αποτελέσουν μια ρεαλιστική προσέγγιση μηχανιστικής αποτύπωσης των ανώτερων θερμικών ορίων των ψαριών, περιγράφοντας τις βασικές τάσεις που παρατηρούνται και πειραματικά.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της διατριβής κατέστησαν σαφές ότι η μελέτη του μεταβολισμού και των θερμικών αποκρίσεων των ψαριών μέσω ενός συνδυασμού πειραματικών και μαθηματικών μεθόδων αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση με ενδιαφέρουσες προεκτάσεις, καθώς αλληλοσυμπληρώνει η μία την άλλη ενώ προσφέρει και εργαλεία με προβλεπτική και ερμηνευτική ισχύ.

# Effects of high temperatures on the metabolism of farmed fish: combining experimental approach and mathematical modeling

## Abstract

Temperature is an important environmental factor for fish as it affects their metabolism and determines a large set of behavioural and physiological traits. According to the socio-economic scenarios of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), the global average sea temperature is expected to increase by several degrees by the end of the century, a trend that is projected to be more pronounced for the Mediterranean as it has been identified as a particularly vulnerable region to climate change. In this context, there is a clear need to study and predict the thermal responses and thermal limits of the organisms living in the Mediterranean, especially if they are species of major commercial interest, such as aquaculture species. The present thesis focuses on the study of the effects of high temperatures on the metabolism of two farmed fish of interest for the Mediterranean aquaculture, European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and meagre (*Argyrosomue regius*). Preparing for and addressing the future challenges requires an integrated approach that contributes both to a better understanding of the responses of organisms to thermal stress, and to the development of appropriate tools, such as mathematical models, that allow further investigation and offer predictive power. For that reason, a combination of experimentatal approaches and mathematical modeling was adopted here.

The aim of the experimental approach was to determine the thermal tolerance of the two species under chronic and acute thermal stress. The main questions focus on the study of their physiological responses to increasing temperatures, the effects on the whole organismal level and its overall performance, and the determination of thermal tolerance limits under conditions of chronic and acute thermal stress. Regarding the mathematical modeling approach, the aim was to investigate the relationships between temperature and metabolism in both species and to simulate metabolic processes under the unified bioenergetic framework of the Dynamic Energy Budget (DEB) theory. DEB theory describes the metabolism of organisms using energy and mass balances and can simulate changes in key biological processes such as growth, energy assimilation, maintenance, maturation and reproduction as a function of temperature and food availability under dynamically changing environments.

In the experimental approach, thermal stress was studied at time scales and intensities relevant to the study of climate change. Three acclimation temperatures representing typical (24 °C), maximum (28 - 29 °C), and predicted under climate change scenarios (33 - 34 °C) summer temperatures in the Mediterranean were investigated and fish responses to a set of biomarkers were studied including developmental, haematological, biochemical, hormonal and molecular parameters as well as the measurement of metabolic rate and the determination of the Crtitical Thermal Maximum under acute thermal stress. The results indicate similar patterns of response for the two species and similar tolerance thresholds to chronic thermal stress, with some quantitative differences between species. The optimum temperature for growth for both E. sea bass and meagre was placed between 24 and 29 °C, with that of meagre being closer to the lower end of the range. A number of biomarkers such as anaerobic metabolism (lactic acid), protective (heat shock proteins, antioxidants) and stress (cortisol) markers indicate levels of mild thermal stress at intermediate temperatures (28 - 29 °C), while chronic exposure to even higher temperatures is not deemed sustainable for the rearing of the species as it has dramatic effects on fish performance and health with rapid deterioration of the physiological markers. Furthermore, the upper limits of survival appear conserved for both species within an extremely narrow temperature range surrounding 33 °C. Moreover, the overall reduction of biological performance when approaching these limits is mainly interpreted as the insufficient capacity for aerobic metabolism, which was reflected in the study of metabolic rate, the development of megacardia, and the increase of anaerobic metabolism markers. Finally, the two species show remarkable tolerance to acute thermal stress, with that of E. sea bass, however, being greater, suggesting that the species carry a significant capacity to cope with episodes of extreme weather events such as heat waves.

With respect to mathematical modeling, DEB models for both species were developed using both literature and experimental data from this thesis for their parameterization. The models were then validated by comparing their predictions to field measurements. In addition, a mathematical module for predicting body composition was developed as well as an approach to simulate thermal tolerance limits during acute thermal stress induction. The goodness of fit of the models to the data showed that the thermal responses of the two species, both in terms of their growth and changes in their energy reserves, can be sufficiently described by a mechanistic framework that interprets metabolism as energy and mass balances. In addition, comparison of the bioenergetic budgets of the two species showed differences in their energetic strategies, with E. sea bass allocating a greater proportion of its budget to maturation and reproduction processes as well as to maintenance, which may explain the higher growth rates observed for the meagre. Furthermore, analysis of the model parameters showed that some parameters, in particular those reflecting the ability to assimilate energy from the environment and the cost of physical maintenance, correlate with optimal temperature, thus allowing comparisons of thermal sensitivity between species. Finally, simulations of acute thermal stress have shown that assumptions based on thermodynamic constraints can provide a realistic approach to mechanistically describe the upper thermal limits of fish, capturing the basic trends that are observed experimentally.

Overall, the results of this thesis have shown that the study of fish metabolism and thermal responses through a combination of experimental and mathematical modeling methods is a promising approach with interesting implications, since they complement each other while offering tools with predictive and interpretative power.

# Πίνακας Περιεχομένων

1	Εισαγ	ωγή	13
	1.1 K	λιματική αλλαγή	13
	1.1.1	Υπερθέρμανση του πλανήτη	13
	1.1.2	Μεσόγειος Θάλασσα	16
	1.2 Θ	ερμική Βιολογία ψαριών	19
	1.2.1	Επίδραση στο μεταβολισμό	19
	1.2.2	Η θερμοκρασία ως παράγοντας καταπόνησης	21
	1.2.3	Θερμική απόκριση και όρια ανοχής	
	1.3 M	Ιεσογειακή Υδατοκαλλιέργεια	
	1.3.1	Ευρωπαϊκό λαβράκι	
	1.3.2	Κρανιός	30
	1.4 M	Ιαθηματική Μοντελοποίηση	
	1.4.1	Βασικές έννοιες	
	1.4.2	Μοντέλα μεταβολισμού στα ψάρια	
	1.4.3	Θεωρία Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου (DEB theory)	
	1.5 Σ	κοπός της διατριβής	
2	Πειρα	ματική προσέγγιση	40
	2.1 E	ισαγωγή	40
	2.2 Y	λικά και Μέθοδοι	
	2.2.1	Περιγραφή συστήματος εκτροφής	
	2.2.2	Περιγραφή των πειραμάτων	44
	2.2.3	Εκτροφή ψαριών και δειγματοληψίες	46
	2.2.4	Εκτίμηση παραμέτρων αύξησης	
	2.2.5	Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις	49
	2.2.6	Μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού	50
	2.2.7	Γονιδιακή έκφραση	52

	2.2.8	Οξεία θερμική καταπόνηση	54
	2.2.9	Χρόνος γαστρικής κένωσης	55
	2.2.10	Στατιστική Ανάλυση	56
	2.3 Az	ποτελέσματα πειράματος λαβρακιού	57
	2.3.1	Παράμετροι αύξησης	57
	2.3.2	Χρόνος Γαστρικής Κένωσης	62
	2.3.3	Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις	63
	2.3.4	Γονιδιακή έκφραση	67
	2.3.5	Μεταβολικός ρυθμός	68
	2.3.6	Οξεία θερμική καταπόνηση	69
	2.4 Az	ποτελέσματα πειράματος κρανιού	70
	2.4.1	Παράμετροι αύξησης	70
	2.4.2	Χρόνος Γαστρικής Κένωσης	77
	2.4.3	Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις	78
	2.4.4	Γονιδιακή έκφραση	
	2.4.5	Μεταβολικός ρυθμός	83
	2.4.6	Οξεία θερμική καταπόνηση	84
3	Μαθημ	ιατική μοντελοποίηση	85
	3.1 Eı	σαγωγή	85
	3.2 Av	νάπτυξη Μοντέλων	86
	3.2.1	Περιγραφή του DEB μοντέλου	86
	3.2.2	Επίδραση της θερμοκρασίας	
	3.2.3	Προσδιορισμός σωματικής σύστασης	96
	3.2.4	Εκτίμηση παραμέτρων	101
	3.2.5	Επαλήθευση μοντέλων	102
	3.3 П <sub>1</sub>	ροσομοιώσεις	104
	3.3.1	Σωματική σύσταση	104
	3.3.2	Οξεία θερμική καταπόνηση	105
	3.4 Az	ποτελέσματα	109

3.4.	1 Εκτίμηση παραμέτρων	09		
3.4.	2 Επαλήθευση μοντέλων1	16		
3.4.	3 Σωματική σύσταση	19		
3.4.	4 Οξεία θερμική καταπόνηση1	23		
4 Συζι	ήτηση1	27		
4.1	Πειραματική προσέγγιση1	27		
4.1.	1 Θερμική απόκριση λαβρακιού	27		
4.1.	2 Θερμική απόκριση κρανιού	30		
4.2	Μαθηματική μοντελοποίηση1	34		
4.2.	<ol> <li>Μελέτη των ενεργειακών ισοζυγίων</li> </ol>	34		
4.2.	2 Θερμική ανοχή1	38		
4.3	Ερμηνεύοντας τα πρότυπα θερμικής απόκρισης1	42		
4.4	Συσχέτιση ευρημάτων διατριβής με την κλιματική αλλαγή	47		
5 Συμ	περάσματα1	51		
Βιβλιογ	Βιβλιογραφία			

## Κεφάλαιο

# 1 Εισαγωγή

## 1.1 Κλιματική αλλαγή

#### 1.1.1 Υπερθέρμανση του πλανήτη

Η υπερθέρμανση του πλανήτη έχει απασχολήσει έντονα την παγκόσμια κοινότητα τις τελευταίες δεκαετίες και έχει αναμφιβόλως αναγνωριστεί σαν μια από τις σημαντικότερες σύγχρονες προκλήσεις της ανθρωπότητας στον 21° αιώνα. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Ηνωμένων εθνών (OHE), ο όρος αναφέρεται σε μεταβολές των παγκόσμιων και τοπικών κλιματικών τάσεων σε χρονικές κλίμακες δεκάδων έως εκατοντάδων χρόνων οι οποίες οφείλονται άμεσα ή έμμεσα σε ανθρώπινες δραστηριότητες και συνεπώς διακρίνεται από την κλιματική μεταβλητότητα που μπορεί να οφείλεται σε φυσικά αίτια. Μόλις τους τελευταίους δύο αιώνες, η ανθρώπινη δραστηριότητα έχει προκαλέσει σημαντικές μεταβολές στο παγκόσμιο κλίμα, με την αύξηση της θερμοκρασίας να αποτελεί την πιο έκδηλη μορφή του φαινομένου. Συγκεκριμένα, όπως δείχνουν και τα ιστορικά δεδομένα η μέση θερμοκρασία του πλανήτη έχει αυξηθεί κατά περίπου 1 °C σε σχέση με την προβιομηχανική εποχή (1850 - 1900) ενώ η ραγδαία αυξητική τάση δεν δείχνει μέχρι στιγμής σημάδια καμπής (Teske, 2019).

Ο καθοριστικός ρόλος του ανθρώπου στην εξέλιξη της κλιματικής αλλαγής έγκειται κατά κύριο λόγο στη ρύπανση της ατμοσφαίρας και την καταστροφή των δασών που έχουν ως αποτέλεσμα τη διαταραχή του ενεργειακού ισοζυγίου που ρυθμίζει τη θερμοκρασία του πλανήτη. Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία της γης ρυθμίζεται από μία φυσική διεργασία γνωστή ως φαινόμενο του θερμοκηπίου. Σε αυτή τη διεργασία μετέχουν περίπου 20 αέρια τα οποία βρίσκονται στην ατμόσφαιρα και εγκλωβίζουν μέρος της ανακλώμενης από την επιφάνεια της γης ηλιακής ακτινοβολίας, οδηγώντας έτσι στη ρύθμιση της θερμοκρασίας. Παρότι το 60% του φαινομένου αποδίδεται στην παρουσία υδρατμών (H2O), το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) αποτελεί ένα από τα πλέον σημαντικά αέρια του θερμοκηπίου με συνεισφορά της τάξης του 16% ενώ άλλα αέρια όπως το μεθάνιο (CH4), το υπεροξείδιο του αζώτου (NO<sub>2</sub>), το όζον (O<sub>3</sub>) και οι χλωροφθοράνθρακες (CFCs) συνεισφέρουν σε μικρότερο βαθμό. Αναπόφευκτα, μεταβολές στην παρουσία αυτών των

αερίων οδηγούν σε αποσταθεροποίηση της θερμοκρασίας. Τα τελευταία 200 χρόνια, η εξάρτηση της ανθρωπότητας από μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, όπως ορυκτά καύσιμα, πετρέλαιο, και φυσικό αέριο οδήγησε σε έκλυση τεράστιων ποσοτήτων αυτών των αερίων στην ατμόσφαιρα με επακόλουθη αύξηση της απορρόφησης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας και κατ' επέκταση της θερμοκρασίας του πλανήτη. Χαρακτηριστικά, εκτιμάται ότι το διάστημα αυτό οι συγκεντρώσεις του ατμοσφαιρικού CO<sub>2</sub> και CH<sub>4</sub> αυξήθηκαν κατά 47% και 156% αντίστοιχα, ενώ αυξητική πορεία παρουσίασαν και τα υπόλοιπα αέρια του θερμοκηπίου (IPCC, 2018).

Λαμβάνοντας υπόψη την ισχύουσα τάση, η περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας του πλανήτη θεωρείται αναπόφευκτη με τα πιο απαισιόδοξα σενάρια να προβλέπουν αύξηση της μέσης θερμοκρασίας μέγρι και 3.5 °C το 2100 σε σχέση με σήμερα (Stocker et al., 2014) καθώς και αύξηση των περιστατικών καύσωνα κυρίως στις περιοχές που καλύπτουν την Ευρώπη και την Ασία (Perkins et al., 2012). Για αυτές τις εκτιμήσεις χρησιμοποιούνται πολύπλοκα μαθηματικά μοντέλα, γνωστά ως General Circulation Models (GCMs), τα οποία προβλέπουν μακρογρόνιες κλιματικές αλλαγές σε παγκόσμιο επίπεδο προσομοιώνοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ατμόσφαιρας, ωκεανών, επιφάνειας εδάφους, και θαλάσσιου πάγου. Ωστόσο, επειδή οι κλιματικές μεταβολές καθορίζονται από τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου, οι μελλοντικές κλιματικές τάσεις θα επηρεαστούν σημαντικά από κοινωνικο-οικονομικά κριτήρια και στρατηγικές πολιτικής. Έτσι, παρότι οι φυσικοχημικοί μηχανισμοί που διέπουν αλλαγές στο κλίμα μπορεί να έχουν σε μεγάλο βαθμό αποσαφηνιστεί, οι κλιματικές προβλέψεις για τις επόμενες δεκαετίες φέρουν μεγάλο βαθμό αβεβαιότητας. Για το λόγο αυτό, η Διακυβερνητική Επιτροπή για την Κλιματική Αλλαγή (IPCC) που βρίσκεται υπό την αιγίδα του ΟΗΕ, δημοσιεύει ανά τακτικά γρονικά διαστήματα εκθέσεις για την κλιματική αλλαγή, στις οποίες συνυπολογίζονται κάθε φορά επικαιροποιημένα κλιματικά μοντέλα και ρεαλιστικά κοινωνικο-οικονομικά σενάρια. Στην πιο πρόσφατη έκθεση αξιολόγησης της (AR6), η IPCC υιοθέτησε πέντε σενάρια εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (Κοινά Κοινωνικο-οικονομικά Μονοπάτια, Shared Socioeconomic Pathways, SSPs) (Εικόνα 1-1). Από αυτά, το SSP4.5 και το SSP8.5 είναι κατά αντιστοιχία με τους προκατόχους τους RCP4.5 και RCP8.5 από την πέμπτη έκθεση αξιολόγησης (AR5) τα πιο δημοφιλή, καθώς αντιπροσωπεύουν το "πιο πιθανό" και "πιο απαισιόδοξο" σενάριο αντίστοιχα (Lotze et al., 2019, Sarà et al., 2018, Stocker et al., 2014, Tebaldi et al., 2021, van Vuuren et al., 2011). Σύμφωνα με το σενάριο SSP2 - 4.5, προβλέπεται αύξηση της μέσης θερμοκρασίας της θάλασσας περίπου 2 °C έως το 2100 σε σχέση με την περίοδο αναφοράς 1990-2014, ενώ η αντίστοιχη αύξηση υπό το

σενάριο SSP5 - 8.5 αναμένεται να είναι της τάξης των 3,7 °C. Ωστόσο, πρόσφατες εκθέσεις της IPCC υποδεικνύουν ότι οι εκπομπές άνθρακα έχουν ήδη υπερβεί το όριο που έχει καθοριστεί για το SSP2 - 4.5, γεγονός που καθιστά το SSP5 - 8.5 ολοένα και πιο επίκαιρο (Teske, 2019).



Εικόνα 1-1 Μέση παγκόσμια αύξηση της θερμοκρασίας βάσει των σεναρίων της Διακυβερνητικής Επιτροπής για την Κλιματική Αλλαγή (IPCC) (προσαρμοσμένο από τους (Tebaldi et al., 2021).

Figure 1-1 Mean global temperature increase based on the scenarios of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (Tebaldi et al., 2021).

Εξίσου σημαντική με την αύξηση της μέσης θερμοκρασίας θα είναι στο μέλλον και η αύξηση της συχνότητας αλλά και της έντασης περιστατικών καύσωνα, τα οποία χαρακτηρίζονται ως θερμοκρασιακές ανωμαλίες. Αν και αυτά τα φαινόμενα δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς, μπορούν να έχουν δραματικές επιπτώσεις στα θαλάσσια οικοσυστήματα με πλήθος μελετών να αναφέρουν αλλαγές στη φυσιολογία και μαζικές θνησιμότητες σε οργανισμούς όπως ψάρια, ασπόνδυλα, και θηλαστικά (Garrabou et al., 2019, Smale et al., 2019, Smith et al., 2021). Ομολογουμένως, η περιγραφή αυτών των ακραίων περιστατικών και ο καθορισμός των ορίων θερμοκρασίας που τα χαρακτηρίζουν αποτελεί πρόκληση, και παρότι έχουν δοκιμαστεί πολλές προσεγγίσεις (Hobday et al., 2016), προβλέψεις σχετικά με τη μελλοντική τους εξέλιξη υπό το πλαίσιο της κλιματικής αλλαγής παραμένουν ένα πεδίο επιστημονικής αβεβαιότητας. Ωστόσο, ιστορικά στοιχεία δείχνουν ότι κατά τον περασμένο αιώνα, οι θαλάσσιοι καύσωνες έχουν αυξηθεί όχι μόνο σε συχνότητα (κατά 34%) αλλά και σε διάρκεια (κατά 17%) (Oliver et al., 2018). Αυτό συνεπάγεται συνολική αύξηση κατά 54% των ημερών που χαρακτηρίζονται ως ημέρες καύσωνα παγκοσμίως ενώ η τάση αναμένεται να συνεχιστεί και στο μέλλον. Συγκεκριμένα, με βάση στοιχεία των τελευταίων 30 ετών, οι Frölicher et al., (2018) προβλέπουν ότι μέχρι το τέλος του αιώνα, και ανάλογα με το κλιματικό σενάριο υπό εξέταση, οι ημέρες καύσωνα στη θάλασσα θα αυξηθούν κατά 16 - 23 φορές, προκαλώντας έτσι θερμοκρασιακές ανωμαλίες που ξεπερνούν τους 2,5 °C σε ένταση και διαρκούν πάνω από 100 ημέρες.

#### 1.1.2 Μεσόγειος Θάλασσα

Παρά το μικρό της μέγεθος που αντιστοιχεί στο μόλις 0,7% της επιφάνειας των θαλασσών του πλανήτη, η Μεσόγειος Θάλασσα αποτελεί ένα σημαντικό καταφύγιο βιοποικιλότητας, καθώς απαντάται σε αυτήν το 7,5% της παγκόσμιας θαλάσσιας πανίδας με πολλά μάλιστα από τα είδη της να είναι ενδημικά (Coll et al., 2010). Κατά συνέπεια, είναι ιδιαίτερα κρίσιμη η μελέτη των μεταβολών στο θερμοκρασιακό προφίλ της Μεσογείου καθώς αναμένεται να επηρεάσει την πλειονότητα των οργανισμών που διαβιούν σε αυτήν (Marbà et al., 2015). Μάλιστα, πολλά από τα είδη που θα επηρεαστούν έχουν σημαντική εμπορική αξία όπως ψάρια, καρκινοειδή, και μαλάκια αλιευτικού ενδιαφέροντος (Stergiou et al., 2016) αλλά και είδη υδατοκαλλιέργειας (Rosa et al., 2012, Stavrakidis-Zachou et al., 2021a).

Ένας κεντρικός διαχωρισμός της Μεσογείου είναι αυτός μεταξύ Δυτικής και Ανατολικής λεκάνης, οι οποίες συνδέονται μέσω του σχετικά ρηχού (316 m) Πορθμού της Σικελίας. Παρότι οι δύο λεκάνες διαφέρουν ελαφρώς στο θερμοκρασιακό τους προφίλ γενικά παρουσιάζουν το ίδιο πρότυπο με ήπιους χειμώνες και θερμά καλοκαίρια. Συγκεκριμένα, οι χειμερινές θερμοκρασίες στην επιφάνεια της θάλασσας κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 13 – 17 °C (Skliris et al., 2012), αν και σε ορισμένες από τις βορειότερες περιοχές μπορεί να καταγραφούν χαμηλότερες τιμές. Το καλοκαίρι, οι τυπικές θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 24 - 28 °C, με μια σημαντική διαφορά να είναι ότι η Ανατολική λεκάνη γενικά παρουσιάζει υψηλότερες τιμές έως και 2 °C συγκριτικά με τη Δυτική (Marras et al., 2015).

Ωστόσο, η ανθρωπογενής κλιματική αλλαγή αναμένεται να προκαλέσει σημαντική μετατόπιση στο εύρος θερμοκρασιών που χαρακτηρίζουν τη Μεσόγειο. Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο, η μέση θερμοκρασία του πλανήτη θα αυξηθεί κατά αρκετούς βαθμούς μέχρι το τέλος του αιώνα. Η τάση αυτή προβλέπεται να είναι εντονότερη για τη Μεσόγειο λόγω του ότι είναι μια ημίκλειστη λεκάνη με χαμηλή ανταλλαγή νερού με άλλες ωκεάνιες μάζες, γεγονός που έχει οδηγήσει στον χαρακτηρισμό της ως μιας ιδιαίτερα ευάλωτης περιοχής στην

κλιματική αλλαγή (Azzurro et al., 2019, Feidantsis et al., 2020, Rosa et al., 2012). Συγκριτικά, ενώ τα τελευταία 50 χρόνια οι ωκεανοί θερμαίνονται με ένα ρυθμό της τάξης των 0,11 °C ανά δεκαετία, ο ρυθμός θέρμανσης για τη Μεσόγειο είναι πολύ ψηλότερος και ανέρχεται στους 0,61 °C ανά δεκαετία (Belkin, 2009, Oliver et al., 2018).

Όσον αφορά το μέλλον της θερμοκρασίας στη Μεσόγειο, αναμφίβολα οι υπάρχουσες προβλέψεις φέρουν μεγάλο βαθμό αβεβαιότητας που οφείλεται τόσο στη δημιουργία και επιλογή κατάλληλων κλιματικών σεναρίων, αλλά και στους περιορισμούς που φέρουν τα ίδια τα κλιματικά μοντέλα. Μια χρήσιμη πηγή προβλέψεων για την περιοχή αποτελεί η Ευρωπαϊκή πρωτοβουλία Euro-CORDEX (https://www.euro-cordex.net/). Aut $\eta$  παρέχει για το σύνολο των IPCC σεναρίων, δεδομένα υψηλής ανάλυσης σε ποικίλες χωρικές και χρονικές κλίμακες υπό ένα ευρύ φάσμα τοπικών κλιματικών μοντέλων (RCM) (Macias et al., 2014). Στην πλειονότητά τους, τα μοντέλα αυτά έχουν επικυρωθεί συγκρίνοντας τις προβλέψεις τους με χρονοσειρές ιστορικών δεδομένων, όπως αυτές που λαμβάνονται μέσω της Υπηρεσίας Παρακολούθησης Θαλάσσιου Περιβάλλοντος του Ευρωπαϊκού προγράμματος Copernicus (CMEMS). Αν και αυτό επιτρέπει σχετική αξιοπιστία προβλέψεων για την ανοιγτή θάλασσα και σε αδρή γωρική ανάλυση, η μοντελοποίηση κλιματικών αλλαγών στην παράκτια ζώνη, όπου εντοπίζεται και η πλειονότητα της υδατοκαλλιεργητικής δραστηριότητας είναι λιγότερο ακριβής (Le Traon et al., 2019). Συγκεκριμένα, οι προσπάθειες μείωσης της χωρικής κλίμακας από Ευρωπαϊκό σε τοπικό επίπεδο συνήθως αδυνατούν να αποτυπώσουν με ακρίβεια τις ψηλές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις στις παράκτιες περιογές τείνοντας να υποεκτιμούν τα θερινά μέγιστα και να υπερεκτιμούν τα χειμερινά ελάχιστα (Falconer et al., 2020). Επομένως, είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη, ότι στις παράκτιες περιοχές και στις χωρικές κλίμακες που είναι κρίσιμες για την υδατοκαλλιέργεια, οι πραγματικές θερμοκρασίες στο μέλλον ενδέχεται να ξεπεράσουν τις προβλέψεις των μοντέλων, ειδικά κατά τη διάρκεια περιστατικών καύσωνα.

Σύμφωνα με τους Barredo et al., (2018), οι οποίοι συγκέντρωσαν και ανέλυσαν έναν μεγάλο αριθμό τοπικών κλιματικών μοντέλων για τη Μεσόγειο, οι μέσες ετήσιες θερμοκρασίες υπό τα πιο μετριοπαθή κλιματικά σενάρια αναμένεται να αυξηθούν κατά 1 °C έως το 2050 και 1,9 °C έως το 2100, σε σύγκριση με την περίοδο αναφοράς 1981 - 2010. Όσον αφορά τα πιο απαισιόδοξα σενάρια υψηλών εκπομπών CO<sub>2</sub>, οι αντίστοιχες αυξήσεις της θερμοκρασίας προβλέπεται να είναι 1,2 και 3,8 °C. Ειδικά για το Δυτικό τμήμα της Μεσογείου, μια τέτοια αύξηση θα μεταφραστεί σε αναμενόμενες επιφανειακές θερμοκρασίες καλοκαιριού μεταξύ 29 και

31 °C μέχρι το τέλος του αιώνα, ενώ μέγιστες θερμοκρασίες 33 °C μπορεί επίσης να καταγραφούν σε περιπτώσεις καύσωνα ή σε κάποια τμήματα της Ανατολικής λεκάνης (Garcias-Bonet et al., 2016). Παρόμοια θερμοκρασιακή αύξηση έως το τέλος του αιώνα έχει προβλεφθεί και από άλλους συγγραφείς (Εικόνα 1-2), επιβεβαιώνοντας έτσι την παραπάνω ανάλυση (Sakalli, 2017). Επίσης, σε μια συγκεντρωτική μελέτη όπου λήφθηκαν υπόψη πολλά τοπικά κλιματικά μοντέλα αλλά και σενάρια εκπομπών, οι Adloff et al., (2015) αναφέρουν πιθανή αύξηση 1,7 - 3 °C για τη μέση θερμοκρασία της Μεσογείου, ενώ εντοπίζουν κρίσιμες περιοχές όπως το βορειοδυτικό Ιόνιο, τις Βαλεαρίδες Νήσους, το Αιγαίο και τη Θάλασσα της Λεβαντίνης, που θα παρουσιάσουν τη μέγιστη αύξηση της επιφανειακής θαλάσσιας θερμοκρασίας (SST). Μάλιστα, η αύξηση της θερμοκρασίας φαίνεται ότι θα επηρεάσει περισσότερο τους καλοκαιρινούς μήνες (Ιούνιο έως Αύγουστο), με προβλέψεις έως και 7 °C υψηλότερες μέχρι το τέλος του αιώνα σε σύγκριση με τις τρέχουσες τιμές (Stocker et al., 2014).



Εικόνα 1-2 Προβλέψεις μεταβολής της επιφανειακής θαλάσσιας θερμοκρασίας στη Μεσόγειο μεταξύ 2100 και της περιόδου αναφοράς 1986-2015 (Sakalli, 2017).

Figure 1-2 Projected shifts in the sea surface temperature of the Medeterranean Sea between 2100 and the reference period 1986-2015 (Sakalli, 2017).

## 1.2 Θερμική Βιολογία ψαριών

Η φυσιολογία και η συμπεριφορά των ψαριών συνδέεται άμεσα με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες στους οποίους διαβιούν, όπως για παράδειγμα η θερμοκρασία νερού, η αλατότητα, το pH και το φως (Brauner & Richards, 2020a). Δεδομένου ότι τα ψάρια είναι εξώθερμοι οργανισμοί, δηλαδή οργανισμοί που εξαρτώνται από εξωτερικές πηγές ενέργειας για την εξασφάλιση των ομοιοστατικών τους μηχανισμών και άρα δε ρυθμίζουν ενεργά τη θερμοκρασία του σώματός τους με βοήθεια μεταβολικής ενέργειας από το μιτοχονδριακό μεταβολισμό (Somero, 2010), θεωρείται ότι η θερμοκρασία είναι ο περιβαλλοντικός παράγοντας με τη μεγαλύτερη σημασία, καθώς επιδρά σε όλα τα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης (Pörtner, 2001, Waldock et al., 2018). Η θερμοκρασία συνδέεται με βασικές κυτταρικές διεργασίες όπως η ενζυμική δραστηριότητα και τα δομικά χαρακτηριστικά μεμβρανών και πρωτεϊνών (Peterson et al., 2007). Μεταβολές σε χαρακτηριστικά των ψαριών όπως η εμβρυϊκή ανάπτυξη, ο χρόνος μετανάστευσης και πρώτης αναπαραγωγής, ο ρυθμός αύξησης, η επιβίωση, η γονιμότητα και ακόμα κι ο καθορισμός του φύλου έχουν συσχετιστεί πρωτίστως με αλλαγές στις θερμοκρασίες (Crozier & Hutchings, 2014, Little et al., 2020, O'Dea et al., 2019). Η μελέτη των επιδράσεων της θερμοκρασίας στις παραπάνω διεργασίες αποτελεί και το αντικείμενο της θερμικής βιολογίας των ψαριών.

#### 1.2.1 Επίδραση στο μεταβολισμό

Μεταβολισμός χαρακτηρίζεται το αθροιστικό σύνολο των χημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα ενός οργανισμού. Περιλαμβάνει δηλαδή όλες εκείνες τις βιοχημικές διεργασίες που σχετίζονται με την παραγωγή και απελευθέρωση ενέργειας και μάλιστα χωρίζεται σε δύο σκέλη, τον αναβολισμό και τον καταβολισμό. Ο αναβολισμός περιλαμβάνει τις χημικές αντιδράσεις σύνθεσης πολύπλοκων οργανικών ενώσεων με χρήση ενέργειας ενώ ο καταβολισμό αυτές που σχετίζονται με τη διάσπαση χημικών ενώσεων προς παραγωγή ενέργειας. Όλες οι παραπάνω αντιδράσεις καταλύονται από ενζυμα, δηλαδή ειδικά διαμορφωμένες πρωτεΐνες που επιταχύνουν το ρυθμό των αντιδράσεων κατά πολλές τάξεις μεγέθους σε σχέση με τον ίδιο ρυθμό απουσία κατάλυσης (Cooper, 2000). Τα ένζυμα γενικά χαρακτηρίζονται ανα πάσα στιγμή ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων που καταλύουν διαφορετικές αντιδράσεις. Η καταλυτική δράση

των ενζύμων αποδίδεται στην ικανότητα τους να δεσμένουν επιλεκτικά τα οργανικά υποστρώματα που συμμετέχουν σε μία αντίδραση και να μειώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης, την ελάχιστη ενέργεια δηλαδή που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η αντίδραση (Daniel et al., 2009).

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την ταχύτητα των βιολογικών αντιδράσεων είναι η θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, άνοδος της θερμοκρασίας, συνεπάγεται άνοδο της ταζύτητας της αντίδρασης. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της πιθανότητας των αντιδρωσών ουσιών να συνδεθούν με το κατάλληλο ένζυμο, που με τη σειρά του προκαλείται από την θερμοκρασιακά επαγώμενη αύξηση της κινητικής ενέργειας αυτών των ουσιών (Eisenthal et al., 2006). Ωστόσο, παρατηρείται ότι η εκάστοτε αντίδραση χαρακτηρίζεται από ένα θερμοκρασιακό βέλτιστο πέραν του οποίου η ταχύτητα της μειώνεται σταδιακά μέχρι τον πλήρη μηδενισμό της, κάτι που αποδίδεται στην απώλεια δομικής σταθερότητας των ενζύμων κάτω από πολύ υψηλές θερμοκρασίες (Arcus & Mulholland, 2020).

Λόγω λοιπόν της παράπανω ισχυρής της επίδρασης στην ενζυμική δραστικότητα, η θερμοκρασία συνδέεται άρρηκτα με τον μεταβολισμό, καθώς επηρεάζει την ταχύτητα του συνόλου των γημικών αντιδράσεων που τον απαρτίζουν. Απόρροια αυτού είναι ότι μεταβολές στη θερμοκρασία μεταφράζονται σε μεταβολές σε όλα τα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης, από το μοριακό μέχρι και το επίπεδο ολόκληρου του οργανισμού. Συγκεκριμένα, η αύξηση της θερμοκρασίας σχετίζεται θετικά με τους ρυθμούς παραγωγής ενέργειας από τη διάσπαση οργανικών ενώσεων αλλά και με τη χρήση της για τη διατήρηση και σύνθεση νέων κυτταρικών δομών, τάσεις που συχνά αντανακλώνται και από υψηλούς αναπτυξιακούς ρυθμούς σε θερμότερα περιβάλλοντα (Morrongiello et al., 2019, Payne et al., 2016). Επιπλέον, η αυξημένη κυτταρική δραστηριότητα συνεπάγεται αύξηση των απαιτήσεων σε οξυγόνο για την πραγματοποίηση των διεργασιών της γλυκόλυσης, του κύκλου του κιτρικού οξέως, και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, που συνθέτουν τον αερόβιο μεταβολισμό. Ως εκ τούτου, η κατανάλωση οξυγόνου τείνει να αυξάνει με τη θερμοκρασία, ενώ αποτελεί και τον πιο διαδεδομένο δείκτη μέτρησης του μεταβολικού ρυθμού (Chabot et al., 2016). Μάλιστα, η ικανότητα των εξώθερμων οργανισμών για αερόβιο μεταβολισμό τυπικά ποσοτικοποιείται μέσω του αερόβιου δυναμικού (Aerobic Scope, AS), δηλαδή της διαφοράς μεταξύ του τυπικού μεταβολικού ρυθμού (ή μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας) (Standard Metabolic Rate, SMR) και του μέγιστου μεταβολικού ρυθμού (Maximum Metabolic Rate, MMR). Οι δύο ρυθμοί, μετρούνται ως κατανάλωση οξυγόνου υπό συνθήκες ηρεμίας και έντονης άσκησης, αντίστοιχα, και συνεπώς εκφράζουν τις ελάχιστες μεταβολικές απαιτήσεις για διατήρηση της ζωής στην πρώτη περίπτωση και τη μέγιστη αερόβια μεταβολική ικανότητα στη δεύτερη (Norin & Clark, 2016). Όπως θα αναλυθεί και στις επόμενες παραγράφους, η επίδραση της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό μεταφράζεται σε πλήθος φυσιολογικών αποκρίσεων ενώ η αερόβια ικανότητα παίζει καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό των ορίων θερμικής ανοχής.

#### 1.2.2 Η θερμοκρασία ως παράγοντας καταπόνησης

Παρά τη γενικά θετική επίδραση της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό, πολύ υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να επιφέρουν αρνητικές επιπτώσεις στον οργανισμό. Για παράδειγμα, οι πρωτεΐνες αποτελούν θερμοκρασιακά ευαίσθητα κυτταρικά συστατικά των οποίων η λειτουργικότητα εξαρτάται από την τρισδιάστατη δομή τους. Η δομή αυτή διατηρείται σε μεγάλο βαθμό από ασθενείς αλληλεπιδράσεις όπως δεσμοί υδρογόνου και δεσμοί van der Waals οι οποίοι αποσταθεροποιούνται σε υψηλές θερμοκρασίες. Αποτέλεσμα αυτού είναι η απώλεια της τρισδιάστατης δομής των πρωτεϊνών, μια διαδικασία που ονομάζεται μετουσίωση, η οποία οδηγεί στην αναστολή της λειτουργίας τους (Somero, 2010). Αντίστοιχα, ακραίες θερμοκρασίες μπορεί να επιδράσουν αρνητικά στη δομή των κυτταρικών λιπιδίων, διακόπτοντας τη μεμβρανική λειτουργία και οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο ή ακόμα και στη δομή του κυτταρικού σκελετού και των νουκλεϊκών οξέων (Cheng et al., 2018, Niu & Xiang, 2018).

Είναι σαφές λοιπόν ότι η θερμοκρασία μπορεί να αποτελέσει μια σημαντική συνθήκη καταπόνησης για τα ψάρια, μια αιτία δηλαδή που γενικά μειώνει τις φυσιολογικές επιδόσεις των οργανισμών. Ωστόσο, έχουν εξελιχθεί πλήθος μηχανισμών που διασφαλίζουν την επιβίωση και την αναπαραγωγική τους επιτυχία υπό τέτοιες συνθήκες. Αυτούς τους εκφράζουν μέσω μιας σειράς αποκρίσεων με στόχο τη ρύθμιση της φυσιολογίας τους. Κατά την πρώτη, λοιπόν, έκθεση σε ένα παράγοντα καταπόνησης προκαλούνται φυσιολογικές αλλαγές γνωστές ως απόκριση στην καταπόνηση. Σε πρώτη φάση, αυτό περιλαμβάνει ενεργοποίηση νευροενδοκρινολογικών μηχανισμών στον εγκέφαλο, που με τη σειρά τους κινητοποιούν, μεταξύ άλλων, μεταβολικές, αιματολογικές και ανοσολογικές αποκρίσεις (Barton, 2002, Schreck & Tort, 2016). Τυπικά, η απόκριση στην καταπόνηση εκδηλώνεται με αυξημένες συγκεντρώσεις κορτιζόλης, γλυκόζης, γαλακτικού οξέος και άλλων μεταβολιτών στο αίμα για πολλές ώρες μετά την έκθεση. Ωστόσο, σε περιπτώσεις παρατεταμένης έκθεσης, οι υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να παραμείνουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, υποδεικνύοντας έτσι σημάδια χρόνιας καταπόνησης (Deng et al.,

2018, Yousefi et al., 2016). Στην περίπτωση αυτή, οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί που ενεργοποιήθηκαν αρχικά δίνουν τη θέση τους σε πιο μόνιμες προσαρμογές που επιτρέπουν τη βελτιστοποίηση της επίδοσης υπό τις νέες συνθήκες.

Μια προσέγγιση για την κατανόηση αυτών των προσαρμογών είναι μέσω του φυσιολογικού πλαισίου της αλλόστασης (Korte et al., 2007, Ramsay & Woods, 2014). Η ουσία του συνοψίζεται στη φράση 'σταθερότητα μέσω αλλαγής' και περιλαμβάνει μηχανισμούς που μεταβάλλουν τις φυσιολογικές μεταβλητές ανάλογα με τα επίπεδα αναμενόμενης αλλαγής. Αυτό εξοπλίζει τους οργανισμούς με πλαστικότητα ώστε να μπορούν να αντιμετωπίσουν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών μεταβολών με προσαρμοστικές αλλαγές στο μεταβολισμό τους, στο ανοσοποιητικό τους, και στο καρδιαγγειακό τους σύστημα. Ωστόσο, επειδή δεν ενεργοποιούνται όλοι οι αλλοστατικοί μηχανισμοί με την ίδια ταχύτητα, συχνά απαιτείται σημαντικός χρόνος, ώστε να επιτευχθεί πλήρης προσαρμογή στις νέες συνθήκες. Ο χρόνος αυτός αποτελεί την περίοδο εγκλιματισμού και μπορεί να έχει διάρκεια αρκετών εβδομάδων.

Κατά τη διάρκεια της περιόδου εγκλιματισμού, λαμβάνουν χώρα βιοχημικές, μορφολογικές και μοριακές αλλαγές στο επίπεδο του οργανισμού. Για παράδειγμα, αιματολογικές παράμετροι όπως ο αιματοκρίτης και η αιμοσφαιρίνη είναι γνωστό ότι μεταβάλλονται κάτω από διαφορετικές συνθήκες οξυγόνου ή θερμοκρασίας (Islam et al., 2020b, Shahjahan et al., 2018). Συγκεκριμένα, επάγοντας την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοσφαιρίνης, τα ψάρια είναι σε θέση να αυξήσουν την ικανότητά τους για αερόβιο μεταβολισμό, ένα φαινόμενο καλά τεκμηριωμένο ως απόκριση σε αυξημένες θερμοκρασίες (Samaras et al., 2016b). Σε ακραίες περιπτώσεις, οι μηγανισμοί εγκλιματισμού μπορεί να περιλαμβάνουν επίσης αναδιοργάνωση ιστών και αλλαγή του μεγέθους των οργάνων, όπως συμβαίνει στην περίπτωση της υπερτροφίας του καρδιακού μυός κάτω από υψηλές θερμοκρασίες (Keen et al., 2015). Επιπλέον, τέτοιες αλλαγές συνήθως συνοδεύονται από αυξημένο μεταβολισμό. Αυτό, αντικατοπτρίζεται από την αύξηση του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου (Pörtner et al., 2017) και την αύξηση άλλων μεταβολιτών του πλάσματος, όπως εκείνων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό και την κινητοποίηση λιπών (χοληστερόλη, λιπίδια, ηπατικά ένζυμα), ενώ χρόνιες εκφάνσεις καταπόνησης μπορεί να είναι επίσης και αλλαγές στη σωματική σύσταση (Chatzifotis et al., 2018, Guerreiro et al., 2012, Riera-Heredia et al., 2020). Τέλος, δεδομένου ότι η ρύθμιση όλων των παραπάνω μεταβολικών και βιοχημικών παραμέτρων βρίσκεται, σε μεγάλο βαθμό, υπό γενετικό έλεγχο, σημαντικές αλλαγές εντοπίζονται επίσης στη γονιδιακή έκφραση. Ειδικότερα, συνθήκες καταπόνησης τυπικά επάγουν την έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών που είναι γνωστές ως πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος (HSPs, Heat Shock Proteins) οι οποίες έχουν προστατευτικό ρόλο για τις κυτταρικές λειτουργίες (Roberts et al., 2010). Ως εκ τούτου, η ανίχνευση αυξημένων συγκεντρώσεων μοριακών δεικτών για αυτές τις πρωτεΐνες αποτελεί μια παγιωμένη προσέγγιση αξιολόγησης των επιπέδων καταπόνησης στα ψάρια (Antonopoulou et al., 2020a, Islam et al., 2020a, Zhang et al., 2017).

#### 1.2.3 Θερμική απόκριση και όρια ανοχής

Επειδή η θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο στις κυτταρικές διαδικασίες, έχει σημαντικό αντίκτυπο και σε όλα τα ανώτερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης. Μεταβολές στις κυτταρικές αποκρίσεις επηρεάζουν τις φυσιολογικές μεταβλητές και διεργασίες ενός οργανισμού και κατά συνέπεια μεταφράζονται σε μεταβολές στις συνολικές επιδόσεις του. Για κάθε είδος υπάρχουν συγκεκριμένες θερμοκρασιακές τιμές στις οποίες μπορεί να αποδώσει βέλτιστα. Καθώς απομακρυνόμαστε από την περιοχή των βέλτιστων τιμών οι επιδόσεις ελαττώνονται και τελικά μηδενίζονται όταν ξεπεραστούν κάποια κρίσιμα θερμοκρασιακά κατώφλια. Αυτές οι κρίσιμες θερμοκρασίες ορίζουν το εύρος ανοχής ενός είδους, δηλαδή το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο μπορεί να επιβιώσει και να αποδώσει μεταβολικά. Μάλιστα, τα θερμικά όρια όχι μόνο διαφέρουν μεταξύ ειδών με κάποια να παρουσιάζουν ένα σχετικά μικρό (στενόθερμα) και άλλα μεγάλο (ευρύθερμα) εύρος ανοχής, αλλά φαίνεται να επηρεάζονται και από παράγοντες, όπως το μέγεθος και το αναπτυξιακό στάδιο του οργανισμού, η παρουσία στρεσογόνων παραγόντων, και το πρότερο θερμικό ιστορικό (Di Santo & Lobel, 2017, Sunday et al., 2019, Zhou et al., 2019). Ωστόσο, ανεξαρτήτως των παραγόντων που επηρεάζουν τα θερμικά όρια, συγκεκριμένες συμπεριφορές στα άκρα των φυσιολογικών ορίων, όπως η έναρξη μυϊκών σπασμών και η αδυναμία κίνησης έγουν καθολικό γαρακτήρα και επιτρέπουν έτσι τον καθορισμό τους για ένα μεγάλο αριθμό ειδών και κάτω από ποικίλες συνθήκες.

Οι δυο κύριες μέθοδοι προσδιορισμού των θερμικών ορίων στα ψάρια είναι η <u>στατική</u>, που μετράει το χρόνο θανάτου κάτω από σταθερές πειραματικές θερμοκρασίες, και η <u>δυναμική</u>, που χρησιμοποιεί σταδιακά αυξανόμενες πειραματικές θερμοκρασίες έως ότου τα ζώα φτάσουν σε κάποιο τελικό σημείο (endpoint).

Η στατική μέθοδος χρησιμοποιεί στατιστικές τεχνικές φαρμακολογίας για τον προσδιορισμό ενός ισοδύναμου του LD50, δηλαδή της δοσολογίας μια ουσίας που προκαλεί

θνησιμότητα 50% στον πληθυσμό των πειραματοζώων, κατασκευάζοντας καμπύλες χρόνουθνησιμότητας, όπου η "δοσολογία" είναι ο χρόνος κατά τον οποίο τα ζώα εκτίθενται σε μια σταθερή θερμοκρασία μέχρι το θάνατό τους. Μέσες θανατηφόρες υψηλές και χαμηλές θερμοκρασίες υπό ποικίλες θερμοκρασίες εγκλιματισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον σχεδιασμό ενός πολυγώνου θερμικής ανοχής που οριοθετεί τη ζώνη αντίστασης (εκτός πολυγώνου) και τη ζώνη ανοχής (εντός πολυγώνου) για κάθε είδος. Κατά συνέπεια, ένας οργανισμός μπορεί να ζήσει απεριόριστα εντός της ζώνης ανοχής, αλλά η επιβίωση είναι χρονικά εξαρτώμενη στη ζώνη αντίστασης. Με αυτό τον τρόπο καθορίζονται επίσης και οι απόλυτες άνω και κάτω θανατηφόρες θερμοκρασίες (Upper and Lower Incipient Lethal Temperatures, UILT και LILT) ως οι θερμοκρασίες στις οποίες επιβιώνει το 50% του πληθυσμού κάτω από απεριόριστα μακρά έκθεση. Το εμβαδόν του θερμικού πολυγώνου θεωρείται ότι αποτελεί έναν ποσοτικό δείκτη θερμικής ανοχής που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για δια-ειδικές συγκρίσεις.

Η δυναμική μέθοδος, αντιθέτως υποβάλει τα ζώα σε σταδιακά αυξανόμενες πειραματικές θερμοκρασίες προς τον καθορισμό της μέγιστης και ελάγιστης κρίσιμης θερμοκρασίας (η αλλιώς κρίσιμου θερμικού μέγιστου ή ελάγιστου) (CT<sub>max</sub>, CT<sub>min</sub>). Η μέθοδος εισήγθη από τους Cowles & Bogert (1944) με το  $CT_{max}$  να ορίζεται ως "το θερμικό σημείο στο οποίο η κινητική δραστηριότητα αποδιοργανώνεται και το ζώο χάνει την ικανότητά του να ξεφεύγει από τις συνθήκες που θα το οδηγήσουν γρήγορα στο θάνατό του". Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί πρωτόκολλα που αποσκοπούν στην τυποποίηση της μεθόδου, κυρίως ως προς τον ρυθμό θέρμανσης, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται επαρκής εξίσωση της θερμοκρασίας του νερού με αυτή του ψαριού χωρίς όμως να προλαβαίνει το ψάρι να εγκλιματιστεί στις νέες συνθήκες. Συνήθως αυτός ο ρυθμός κυμαίνεται μεταξύ 0,3 - 1.5 °C ανά λεπτό (Azra et al., 2020, Di Santo & Lobel, 2017, Kır, 2020). Κατά τη διάρκεια μιας τέτοιας δοκιμασίας, τα ψάρια εμφανίζουν μια αλληλουχία συμπτωμάτων που περιλαμβάνουν απώλεια του ραγιαιο-κοιλιακού προσανατολισμού τους (Loss of Equilibrium, LoE), την ξαφνική έναρξη μυϊκών σπασμών, και τελικά τη μυϊκή ακαμψία, το κώμα και τον θάνατο. Ανάλογα με την επιλογή κάποιου εκ των παραπάνω συμπτωμάτων ως το τελικό σημείο της δοκιμασίας, ο προσδιορισμός των CTmax και CTmin εμφανίζει διαφορές. Ωστόσο, επειδή τα ψάρια στη συντριπτική τους πλειοψηφία ανακάμπτουν από το στάδιο του LoE αν μετά το πέρας του τοποθετηθούν γρήγορα σε νερό τυπικής θερμοκρασίας, συνήθως αυτό είναι το τελικό σημείο που επιλέγεται. Επειδή η δυναμική μέθοδος προσφέρει μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα στα διάφορα taxa, έχει πλεονεκτήματα ως προς την ευζωία και τη μη θανάτωση των πειραματικών

ζώων και είναι ταχύτερη της στατικής, αποτελεί την πλέον εδραιωμένη και αξιόπιστη μέθοδο προσδιορισμού των θερμικών ορίων στα ψάρια (Lutterschmidt & Hutchison, 1997, Moyano et al., 2017, Yanar et al., 2019) γι'αυτό και θα χρησιμοποιηθεί σε αυτή τη μελέτη.

Ένα από τα πιο διαδεδομένα θεωρητικά πλαίσια που περιγράφουν τα θερμικά όρια των εξώθερμων οργανισμών είναι η υπόθεση OCLTT (Oxygen and Capacity Limited Thermal Tolerance) που έχει διατυπωθεί από τον Pörtner (Pörtner, 2001, Pörtner et al., 2017) και τοποθετεί την αερόβια ικανότητα, δηλαδή την ικανότητα οξείδωσης οργανικών υποστρωμάτων προς παραγωγή ενέργειας, στο επίκεντρο του μηχανισμού θερμικής ανοχής. Συγκεκριμένα, το πλαίσιο OCLTT προτείνει ότι θερμοκρασίες εκτός του βέλτιστου εύρους προκαλούν αναντιστοιχία μεταξύ των απαιτήσεων του οργανισμού σε οξυγόνο και της ικανότητάς του να το παρέχει στους ιστούς. Η ικανότητα του κυκλοφορικού συστήματος και των μηχανισμών είναι πεπερασμένες. Καθώς ο οργανισμός προσεγγίζει το όρια αυτής της ικανότητας, η μερική πίεση του οξυγόνου στο αίμα (PO<sub>2</sub>) μειώνεται, οδηγώντας σε προοδευτική υποξία των σωματικών υγρών, και κατά συνέπεια μείωση της αερόβιας ικανότητας οξείδωσης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μετάβαση σε μια κατάσταση μειωμένης αερόβιας ικανότητας και συνολικών επιδόσεων.

Στα ψάρια, η εσωτερική υποξία κάτω από υψηλές θερμοκρασίες οφείλεται στην αδυναμία του καρδιαγγειακού συστήματος να καλύψει τις αυξημένες απαιτήσεις σε οξυγόνο, ενώ κάτω από χαμηλές θερμοκρασίες, στην περιορισμένη ικανότητα των μιτοχονδρίων για οξείδωση. Οι θερμοκρασίες εκατέρωθεν του βέλτιστου εύρους (χαμηλή και υψηλή), στις οποίες ξεκινά η μετάβαση προς μια κατάσταση μειωμένης αερόβιας ικανότητας, ονομάζονται T<sub>p</sub>, όπου το p υποδηλώνει pejus= χειρότερο. Σύμφωνα με αυτή την θεώρηση, οι θερμοκρασίες μεταξύ της υψηλής και χαμηλής T<sub>p</sub> χαρακτηρίζουν την "ενεργητική θερμική ανοχή" ενός οργανισμού, δηλαδή τις θερμοκρασίες που μπορούν να γίνουν ανεκτές για απεριόριστο χρονικό διάστημα. Σε αυτές τις συνθήκες οι ενεργειακές δαπάνες για διατήρηση, ανάπτυξη, αύξηση, αναπαραγωγή, και εκδήλωση διάφορων συμπεριφορών τροφοδοτείται αποκλειστικά από τον αερόβιο μεταβολισμό. Πέραν αυτού του εύρους, η θερμική ανοχή χαρακτηρίζεται ως παθητική και υπόκειται σε χρονικούς περιορισμούς. Καθώς το αερόβιο δυναμικό μειώνεται, οι επιδόσεις του οργανισμού ελαττώνονται, η μερική πίεση του οξυγόνου στο αίμα μειώνεται, και ενεργοποιούνται σταδιακά προστατευτικοί μηχανισμοί καθώς και μονοπάτια του αναερόβιου μεταβολισμού. Οι μεταβολικές επιδόσεις φτάνουν οριακές τιμές όταν η αερόβια ικανότητα μηδενιστεί πλήρως στις κρίσιμες θερμοκρασίες

T<sub>c</sub>. Αυτό το σημείο σηματοδοτεί την εξάρτηση του οργανισμού από τον αναερόβιο μεταβολισμό, καθώς η αερόβια ικανότητα δεν επαρκεί για την κάλυψη ούτε των βασικών ενεργειακών δαπανών. Κατά συνέπεια, μείωση ή αύξηση της θερμοκρασίας πέραν της άνω και κάτω κρίσιμης θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτατη εξάντληση των κυτταρικών ενεργειακών αποθεμάτων και τον σχηματισμό τοξικών μεταβολικών παραπροϊόντων, καθώς και τη μέγιστη κινητοποίηση προστατευτικών μηχανισμών, όπως η σύνθεση πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος και η παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ωστόσο, αν και αυτοί οι μηχανισμοί παρατείνουν την επιβίωση του οργανισμού κάτω από αυτές τις θερμοκρασιακά αντίξοες συνθήκες, η ικανότητα επιβίωσης πέραν των κρίσιμων ορίων είναι περιορισμένη, καθώς και χρονικά εξαρτώμενη, με τον χρόνο επιβίωσης να συσχετίζεται αρνητικά με την απόσταση της θερμοκρασίας έκθεσης από τις κρίσιμες θερμοκρασίες. Σε ακόμα υψηλότερες θερμοκρασίες (denaturation temperature, T<sub>d</sub>) επέρχεται η μετουσίωση πρωτεϊνών και η απώλεια της λειτουργικότητας των κυτταρικών δομών,

Ουσιαστικά, το μοντέλο της OCLTT προτείνει ότι βάσει της μοριακής ιεραρχίας των ορίων θερμικής ανοχής και της ικανότητας παροχής οξυγόνου στους ιστούς, η αύξηση της θερμοκρασίας συνεπάγεται προοδευτικές μεταβάσεις από βέλτιστες, σε χείριστες, σε οξεία θανατηφόρες συνθήκες που περιλαμβάνουν ανάδραση μεταξύ ολόκληρου του οργανισμού και των μοριακών κυτταρικών του μηχανισμών. Αξιοσημείωτο είναι τέλος, ότι παρά την ερμηνευτική ικανότητα και ευρεία αποδοχή αυτού του μοντέλου, ο πειραματικός προσδιορισμός των T<sub>p</sub>, T<sub>c</sub>, T<sub>d</sub> παραμένει ένα δύσκολο εγχείρημα. Όσον αφορά τη CT<sub>max</sub>, που αποτελεί τον πιο ευρέως διαδεδομένο δείκτη θερμικών ορίων στα ψάρια, τοποθετείται κοντά στη θερμοκρασία T<sub>d</sub>, ωστόσο η ακριβής θέση της ως προς τις T<sub>c</sub> και T<sub>d</sub> δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Η σχηματική απεικόνιση του μοντέλου και των παραπάνω θερμικών ορίων παρουσιάζεται στην Εικόνα 1-3.



Εικόνα 1-3 Σχηματική περιγραφή του μοντέλου OCLTT (Oxygen and Capacity Limited Thermal Tolerance), προσαρμοσμένο από Pörtner et al. (2017).  $T_p$ : θερμοκρασία pejus,  $T_c$ : κρίσιμη θερμοκρασία,  $T_d$ : θερμοκρασία μετουσίωσης,  $CT_{max}$ : μέγιστη κρίσιμη θερμοκρασία,  $CT_{min}$ : ελάχιστη κρίσιμη θερμοκρασία.

Figure 1-3 Schematic representation of the OCLTT (Oxygen and Capacity Limited Thermal Tolerance) model, adapted from Pörtner et al. (2017).  $T_p$ : pejus temperature,  $T_c$ : critical temperature,  $T_d$ : denaturation temperature,  $CT_{max}$ : critical thermal maximum,  $CT_{min}$ : critical thermal minimum.

## 1.3 Μεσογειακή Υδατοκαλλιέργεια

Η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί έναν ταχέως αναπτυσσόμενο κλάδο της πρωτογενούς παραγωγής, με μεγάλη οικονομική σημασία για τις χώρες που δραστηριοποιούνται σε αυτήν και τις εξαρτώμενες κοινότητες. Σε μεγάλο βαθμό αυτό οφείλεται στην ανοδική τάση του παγκόσμιου πληθυσμού που προβλέπεται να αγγίξει τα 10 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050, κάνοντας έτσι επιτακτική την ανάγκη για αύξηση της παραγωγής τροφίμων υψηλής διατροφικής αξίας (Kobayashi et al., 2015). Ενδεικτικά, σε παγκόσμιο επίπεδο η κατανάλωση ζωικών υδρόβιων οργανισμών έχει ξεπεράσει σε ετήσιο ρυθμό αύξησης τόσο την αύξηση του πληθυσμού, αλλά και την κατανάλωση τροφής ζωικής προέλευσης από την κτηνοτροφία (FAO, 2020). Μάλιστα, η συνεισφορά της υδατοκαλλιέργειας είναι τεράστια, καθώς αντιπροσωπεύει σημαντικό μέρος της παραγωγής τροφίμων υδρόβιας προέλευσης. Συγκριτικά με την αλιεία, της οποίας η παραγωγή έχει παραμείνει σχετικά σταθερή τα τελευταία 30 χρόνια, η ιχθυοκαλλιέργεια έχει γνωρίσει ραγδαίους ρυθμούς αύξησης, με τη συμβολή της στη συνολική κατανάλωση ιχθυρών να ξεπερνάει το 50% το 2016 (FAO, 2020). Είναι επίσης αξιοσημείωτο ότι σε σχέση με τη συνολική παγκόσμια ετήσια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας, που ανέρχεται σε 82 εκατομμύρια τόνους, τα δύο τρίτα αφορούν παραγωγή ιχθύων είτε σε χερσαίες είτε σε θαλάσσιες εγκαταστάσεις, κάτι που καθιστά την ιχθυοκαλλιέργεια τον σημαντικότερο υδατοκαλλιεργητικό κλάδο (FAO, 2020).

Ειδικότερα για τη μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια, αποτελεί ένα σημαντικό παραγωγικό και εξαγωγικό κλάδο, με δυναμικότητα που αγγίζει το μισό εκατομμύριο τόνους ετησίως, ενώ παρουσίασε και αύξηση της συνολικής παραγωγής κατά 5,2% το 2019 σε σχέση με το 2018 (ΣΕΘ, 2020). Η συντριπτική πλειονότητα των παραγόμενων ιχθύων προέρχεται από εκτροφή σε πλωτούς κλωβούς στη θάλασσα, ενώ το μόλις 2% της παραγωγής να εκτρέφεται σε εσωτερικά ύδατα, λιμνοθάλασσες ή χερσαία συστήματα. Η παραγωγή επικεντρώνεται σχεδόν αποκλειστικά σε δύο κύρια είδη. Αυτά είναι η τσιπούρα (Sparus aurata) και το λαβράκι (Dicentrarchus labrax), που μαζί αποτελούν το 95% της συνολικής παραγωγής, με την παραγωγή τους το 2019 να ανέρχεται σε 252 και 213 χιλιάδες τόνους αντίστοιχα (ΣΕΘ, 2020). Τις τελευταίες δύο δεκαετίες γίνεται επίσης προσπάθεια να ενταχθούν νέα είδη στη μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια, τα οποία έχουν ελκυστικές οικονομικές προοπτικές. Τα πιο σημαντικά από αυτά τα αναδυόμενα είδη είναι ο κρανιός (Argyrosomus regius), το μαγιάτικο (Seriola dumerili), η γλώσσα (Solea solea), και ο κέφαλος (Mugil cephalus) (Angel, 2013), ενώ έχει σημειωθεί ενθαρρυντική πρόοδος σε περισσότερα από αυτά όσον αφορά τους τομείς της αναπαραγωγής, της νυμφικής εκτροφής, της διατροφής, και της παθολογίας τους. Η συνολική παραγωγή αυτών των ειδών παραμένει ωστόσο προς το παρόν μικρή και δεν ξεπερνάει τις λίγες χιλιάδες τόνους ετησίως (FEAP, 2019).

Οι κυριότερες χώρες παραγωγής ιχθύων είναι η Αίγυπτος, η Τουρκία, και η Ελλάδα, με την Τουρκία να κατέχει την πρώτη θέση σε παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού στη Μεσόγειο. Ακολουθεί η Ελλάδα, που είναι ο κύριος παραγωγός των εν λόγω ειδών στην Ευρωπαϊκή Ένωση με ετήσια παραγωγή που ξεπερνά τους 135.000 τόνους, αντιπροσωπεύοντας έτσι το 60% της Ευρωπαϊκής και το 24% της παγκόσμιας παραγωγής (ΣΕΘ, 2020). Ειδικότερα, η ελληνική υδατοκαλλιέργεια είναι ένας κλάδος μεγάλης εθνικής και διεθνούς σημασίας. Αποτελείται από 65 εταιρείες με 328 επί μέρους μονάδες και συνολικό επενδυμένο κεφάλαιο που ξεπερνά τα 740 εκατομμύρια ευρώ, ενώ τα δύο τρίτα της παραγωγής της αποτελούν εξαγωγικό προϊόν που διοχετεύεται στις αγορές της Ευρώπης (ΣΕΘ, 2020). Άλλες χώρες με σημαντική συννεισφορά στη Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια είναι η Ισπανία, η Ιταλία, η Κροατία, η Κύπρος και η Γαλλία (ΣΕΘ, 2020)

#### 1.3.1 Ευρωπαϊκό λαβράκι

Το Ευρωπαϊκό λαβράκι<sup>1</sup> (Dicentrarchus labrax) είναι ένα είδος ψαριού με διαχρονικά υψηλή εμπορική αξία από την αργαιότητα έως σήμερα, που κατατάσσεται ταξινομικά στην τάξη Perciformes, στην οικογένεια Moronidae. Πρόκειται για ένα ευρύαλο και ευρύθερμο είδος που απαντάται στην παράκτια ζώνη σε βάθη μέχρι 100 m, καθώς και σε υφάλμυρα νερά όπως εκβολές ποταμών και λιμνοθάλασσες όπου καταφεύγει κυρίως κατά την ωοτοκία (Vázquez & Muñoz-Cueto, 2014). Ο όρος ευρύαλο αναφέρεται στην ικανότητα του να διαβιεί σε ενδιαιτήματα ποικίλης αλατότητας που κυμαίνονται από υπερύαλα έως υφάλμυρα, ενώ περιστασιακά ακόμα και σε γλυκά νερά σε ποτάμια. Αν και θεωρείται υποτροπικό είδος και απαντάται τυπικά σε θερμοκρασιακά περιβάλλοντα από 8 - 26 °C, έχουν υπάρξει καταγραφές του είδους και κάτω από εξαιρετικά χαμηλές (5 °C) και υψηλές (32 °C) θερμοκρασίες (Dülger et al., 2012, Vázquez & Muñoz-Cueto, 2014) υπογραμμίζοντας τις αξιοσημείωτες θερμικές επιδόσεις του είδους. Η γαρακτηριστική ικανότητα του είδους να επιβιώνει κάτω από μεγάλες διακυμάνσεις περιβαλλοντικών συνθηκών του έχουν επιτρέψει να έχει μια ευρεία γεωγραφική εξάπλωση μεταξύ των 72 - 11° B και 19°  $\Delta$  – 42° A (Bagdonas et al., 2011). Απαντάται δηλαδή κυρίως στη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα, ενώ η εξάπλωσή του εκτείνεται και κατά μήκος των Ευρωπαϊκών και Αφρικανικών παραλίων του Ατλαντικού ωκεανού από τις ακτές της Νορβηγίας μέχρι και αυτές του Μαρόκου.

Στη φύση, η γενετική ωρίμανση επιτυγχάνεται στα 2 - 3 χρόνια για τα αρσενικά και ένα χρόνο αργότερα για τα θηλυκά. Η αναπαραγωγή λαμβάνει χώρα την περίοδο μεταξύ Δεκέμβρη-Μάρτη στις θερμότερες περιοχές που διαβιεί, όπως η ανατολική λεκάνη της Μεσογείου, και μεταξύ Φλεβάρη-Απριλίου σε ψυχρότερες περιοχές, όπως η Ιρλανδία (Vázquez & Muñoz-Cueto, 2014). Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από μεταναστευτικές κινήσεις μεταξύ βαθύτερων νερών και της παράκτιας ζώνης, όπου γίνεται κυρίως η αναζήτηση τροφής. Μετά την εκκόλαψη, οι προνύμφες και τα ιχθύδια περνούν σημαντικό χρόνο του κύκλου ζωής τους σε εύτροφες προστατευμένες περιοχές, όπως λιμνοθάλασσες και φυσικά λιμάνια, ενώ κατά τα επόμενα στάδια παραμένουν σχετικά ανενεργά όσον αφορά τις μετακινήσεις τους. Το ενήλικο λαβράκι μπορεί να φτάσει το μέγιστο μέγεθος του ενός μέτρου και 15 κιλών και τη μέγιστη ηλικία των 30 χρόνων, αν και συνήθως οι τιμές αυτές είναι πολύ μικρότερες (Kottelat & Freyhof, 2007).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Θα αναφέρεται λαβράκι στα επόμενα

Σχετικά με την τροφική οικολογία του λαβρακιού, το είδος θεωρείται ένας ευπροσάρμοστος και οπορτουνιστικός θηρευτής, με πιθανές αλλαγές της τροφικής του συμπεριφοράς στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια. Τα νεαρά και ενήλικα άτομα κυνηγούν κυρίως σε κοπάδια, αν και μοναχικοί θηρευτές έχουν επίσης καταγραφεί σε πολλές περιπτώσεις (Millot et al., 2014). Οι τροφικές προτιμήσεις των νεαρών ατόμων αφορούν στη σύλληψη και κατανάλωση κυρίως καρκινοειδών, όπως κωπήποδα, αμφίποδα και ισόποδα, και σε μικρότερο βαθμό μικρών ψαριών, ενώ τα ενήλικα τρέφονται με μεγαλύτερα καρκινοειδή, όπως καβούρια και γαρίδες, αλλά και πολύχαιτους, ψάρια, και μαλάκια.

Τέλος, όσον αφορά το λαβράκι ως είδος υδατοκαλλιέργειας, ιστορικά η εκτροφή του αρχικά γινόταν μέσω εκτατικών μεθόδων σε λιμνοθάλασσες. Η εντατική εκτροφή του άρχισε μόλις τη δεκαετία του 1970 στη Γαλλία και την Ιταλία με την ανάπτυξη αξιόπιστων τεχνικών που επέτρεψαν την ολοκλήρωση του αναπαραγωγικού του κύκλου σε αιχμαλωσία (FAO, 2016). Πλέον, το λαβράκι εκτρέφεται σχεδόν αποκλειστικά σε εντατικά και ημι-εντατικά συστήματα. Ιχθύδια παράγονται σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς υπό ελεγχόμενες συνθήκες και μεταφέρονται στη συνέχεια σε πλωτούς θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς, όπου φτάνουν το εμπορικό μέγεθος των 300 - 500 g μετά από περίπου 16 - 20 μήνες. Τυπικά, η εκτροφή στους ιχθυοκλωβούς γίνεται σε όγκους που κυμαίνονται από 1.000 έως 15.000 m<sup>3</sup> και σε βάθη μεταξύ 8 - 12 μέτρων (FAO, 2020).

#### 1.3.2 Κρανιός

Ο κρανιός (Argyrosomus regius) είναι ένα βενθοπελαγικό είδος υψηλού τροφικού επιπέδου που κατατάσσεται στην τάξη Perciformes, στην οικογένεια Sciaenidae. Όπως και το λαβράκι, θεωρείται είδος ευρύαλο και ευρύθερμο, κάτι που του επιτρέπει να διαβιεί σε ενδιαιτήματα με μεγάλο εύρος περιβαλλοντικών συνθηκών. Τυπικά απαντάται σε βάθη 15 - 200 μέτρων κοντά σε βραχώδεις πυθμένες και λιβάδια Ποσειδωνίας, αλλά μπορεί να βρεθεί και κοντά στην επιφάνεια (Cárdenas, 2011, Poli et al., 2003, Schneider, 1990). Σχηματίζει κατά βάση μικρές ομάδες ατόμων οι οποίες συναντώνται, εκτός από τη θάλασσα, στην παράκτια ζώνη και σε μεγαλύτερα βάθη, σε μεταβατικά υφάλμυρα νερά, όπως εκβολές ποταμών και λιμνοθάλασσες (Cárdenas, 2011). Η γεωγραφική εξάπλωση του κρανιού είναι μεγάλη, καθώς το είδος απαντάται στο μεγαλύτερο μέρος της παράκτιας ζώνης του Δυτικού Ατλαντικού, από τη Μαύρη Θάλασσα, καθώς και στο

βόρειο τμήμα της Ερυθράς Θάλασσας, όπου μετακινείται μέσω της διώρυγας του Σουέζ (Cárdenas, 2011, Morales-Nin et al., 2012, Schneider, 1990).

Στη φύση, ο κρανιός ωριμάζει γενετικά σε ηλικία 4 - 5 ετών, όταν έχει πλέον φτάσει σε βάρος αρκετών κιλών. Η αναπαραγωγή γίνεται την άνοιξη και το καλοκαίρι και συνοδεύεται από μεταναστεύσεις ατόμων στην παράκτια ζώνη. Μέρος της αναπαραγωγικής τελετουργίας αποτελεί η παραγωγή ήχων από εξειδικευμένους μυς προσαρτημένους στη νηκτική κύστη, το οποίο είναι γνώρισμα της οικογένειας Sciaenidae και προσδίδει στα μέλη της τον χαρακτηρισμό 'croakers' (Pereira et al., 2020). Αν και δείχνει να έχει αντοχή σε μεγάλες θερμοκρασιακές μεταβολές, η αύξησή του επιτυγχάνεται κυρίως τους θερινούς μήνες, ενώ επιβραδύνεται σημαντικά το χειμώνα σε θερμοκρασίες μικρότερες των 13 - 15 °C. Το τελικό του μέγεθος μπορεί να είναι αρκετά μεγάλο ξεπερνώντας σε βάρος τα 50 kg και τα δύο μέτρα μήκος (Duncan et al., 2013).

Η διατροφή του κρανιού στη φύση απαρτίζεται σχεδόν αποκλειστικά από ψάρια. Θηρεύει κάνοντας επιδρομές σε κοπάδια κυρίως από σαρδέλες, αλλά τρέφεται και με άλλα μικρά ψάρια των οικογενειών Clupeidae και Muglidae. Πολύχαιτοι, καρκινοειδή, εχινόδερμα και μαλάκια αποτελούν, επίσης, μέρος της διατροφής τους, αλλά μικρότερο ποσοστό.

Η εμπορική εκμετάλλευση του κρανιού ως είδος υδατοκαλλιέργειας είναι σχετικά πρόσφατη, καθώς ξεκίνησε μόλις στα τέλη της δεκαετίας του 1990 στη Γαλλία, μετά από πρωτοβουλίες Γάλλων και Ιταλών παραγωγών (Duncan et al., 2013, Monfort, 2010). Στη συνέγεια, η εκτροφή του επεκτάθηκε στην Ισπανία και την Ελλάδα το 2004 και 2007 αντίστοιγα, ενώ σήμερα δραστηριοποιούνται και άλλες χώρες στην παραγωγή του, όπως η Πορτογαλία, η Μάλτα και η Αίγυπτος (FAO, 2016). Όπως και στα περισσότερα Μεσογειακά είδη ψαριών, η εκτροφή του γίνεται σχεδόν αποκλειστικά σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς στη θάλασσα. Παρά τη σχετικά πρόσφατη εισαγωγή του είδους στην υδατοκαλλιέργεια, η παραγωγή του παρουσιάζει μια συνεχώς ανοδική τάση. Σύμφωνα με στοιχεία της Ομοσπονδίας Ευρωπαίων Παραγωγών Υδατοκαλλιέργειας, η παραγωγή του κρανιού στην Ευρώπη αυξήθηκε από λίγους τόνους στις αρχές του 2000, σε 5.000 τόνους το 2014, ενώ το 2019 ξεπέρασε τους 8.000 τόνους (FEAP, 2019). Βασικός παράγοντας που συνετέλεσε στην αύξηση του ενδιαφέροντος για αυτό το είδος είναι το σύνολο των ελκυστικών χαρακτηριστικών που παρουσιάζει (Monfort, 2010). Αυτά περιλαμβάνουν εκτός από τη υψηλή ανοχή του σε μεγάλο εύρος θερμοκρασίας και αλατότητας, την εύκολη προσαρμογή του σε συνθήκες αιχμαλωσίας, και τους ταχείς αυξητικούς ρυθμούς. Ειδικότερα, ο κρανιός αναπτύσσεται γρήγορα, φτάνοντας τα 700 g μετά από μόλις ένα χρόνο σε

θαλάσσιους κλωβούς, ενώ ανάλογα με τις συνθήκες εκτροφής, όπως το τάισμα και η θερμοκρασία, στα δύο χρόνια το βάρος του μπορεί να ξεπεράσει τα 2-2,5kg. Έχει, επίσης, χαμηλό δείκτη μετατρεψιμότητας τροφής, κάτι που κάνει την εκτροφή του ιδιαίτερα προσοδοφόρα, ενώ τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της σάρκας του ενισχύουν τις οικονομικές προοπτικές για το είδος. Θεωρείται ότι είναι ψάρι υψηλής διατροφικής αξίας χάρη στην ωραία γεύση και υφή του, αλλά και λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας σε πολυακόρεστα λιπαρά τόσο στο μυϊκό ιστό, αλλά και στη σπλαχνική κοιλότητα. Ενδεικτικά, συγκριτικά με το λαβράκι, ο κρανιός έχει 83% λιγότερο μυϊκό και 88% λιγότερο μεσεντέριο λίπος (Mateos, 2007), κάτι που το καθιστά επίσης ιδανικό είδος για μεταποίηση σε φιλέτα και μακρά αποθήκευση υπό ψύξη.

## 1.4 Μαθηματική Μοντελοποίηση

#### 1.4.1 Βασικές έννοιες

Ο όρος Μαθηματική Μοντελοποίηση αναφέρεται στην περιγραφή ή προσομοίωση ενός φαινομένου, ενός συστήματος ή μίας διαδικασίας χρησιμοποιώντας μαθηματικά εργαλεία, όπως εξισώσεις, αλγορίθμους, στοχαστικές διαδικασίες, κ.ά. Ειδικότερα, η μοντελοποίηση βιολογικών συστημάτων αφορά στην εφαρμογή αυτών των εργαλείων σε ένα μεγάλο εύρος πεδίων που κυμαίνονται από το μοριακό επίπεδο και το άτομο μέχρι αυτό των πληθυσμών και ολόκληρων οικοσυστημάτων. Προϊόν αυτής της διαδικασίας είναι η παραγωγή μοντέλων, δηλαδή μαθηματικών εργαλείων, με στόχο τόσο την κατανόηση βιολογικών φαινομένων, αλλά και την προσομοίωση/πρόβλεψη συμπεριφορών και ιδιοτήτων πολύπλοκων συστημάτων. Τυπικά, ακόμα και τα απλούστερα βιολογικά συστήματα καθορίζονται από ένα τεράστιο αριθμό παραμέτρων που αφορούν τόσο τις ιδιότητες των επί μέρους στοιχείων όσο και το περιβάλλον τους και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Είναι συνεπώς αδύνατο για ένα μοντέλο να συμπεριλάβει όλες τις μεταβλητές που επηρεάζουν ένα βιολογικό σύστημα, αλλά ούτε και είναι αυτός ο σκοπός της μαθηματικής βιολογίας. Αντιθέτως, το κίνητρο κατασκευής μοντέλων είναι η απλουστευμένη περιγραφή ενός φαινομένου με τρόπο κατανοητό και γρήσιμο αναφορικά με τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται. Στόχος είναι η ανάπτυξη μοντέλων που περιγράφουν σύνθετα προβλήματα με επάρκεια χρησιμοποιώντας τον κατά το δυνατό μικρότερο αριθμό μεταβλητών και άρα επιτυγχάνοντας τον βέλτιστο συμβιβασμό μεταξύ ρεαλισμού και πολυπλοκότητας (Kooijman, 2017). Κάθε μοντέλο εμπεριέχει κάποιες υποθέσεις και παραδοχές που είναι αναγκαίες για την

απλοποίηση πολύπλοκων διαδικασιών, ενώ οι προβλέψεις του εμπεριέχουν και κάποιο σφάλμα το οποίο θα πρέπει πάντα να ελέγχεται και να αξιολογείται με πραγματικές παρατηρήσεις.

Ανάλογα με τα χαρακτηριστικά τους τα μοντέλα χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες. Μια από τις κυριότερες διαφοροποιήσεις είναι αυτή μεταξύ εμπειρικών και μηγανιστικών (Siepmann & Siepmann, 2008). Τα εμπειρικά μοντέλα δεν λαμβάνουν υπόψη τους ακριβείς μηχανισμούς που περιγράφουν το υπό μελέτη σύστημα ή φαινόμενο, αλλά παρέχουν μια ποιοτική περίληψη των σχέσεων που παρατηρούνται μεταξύ μεταβλητών για ένα συγκεκριμένο σετ δεδομένων. Το πλεονέκτημά τους είναι ότι είναι απλά και εύκολα στη χρήση και μπορούν να πετύχουν μεγάλη συμφωνία προβλέψεων και παρατηρήσεων για το πλαίσιο στο οποίο χρησιμοποιούνται. Ωστόσο, το βασικό τους μειονέκτημα είναι ότι απαιτούν πάντα δεδομένα για την ανάπτυξή τους και δεν έχουν γενικότητα, δηλαδή η εγκυρότητα των προβλέψεών τους περιορίζεται μόνο για τις συνθήκες που περιγράφονται από τα δεδομένα (Bin Ashoor et al., 2019). Αντιθέτως, τα μηγανιστικά μοντέλα ξεκινούν με την περιγραφή των μηχανισμών και των δομών που εμπλέκονται στη λειτουργία του υπό μελέτη συστήματος και στη συνέχεια προγωρούν σε προβλέψεις που συσχετίζουν τις ανεξάρτητες και τις εξαρτημένες μεταβλητές. Πρόκειται για μοντέλα που έχουν ευρεία εφαρμογή και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για συνθήκες μακράν διαφορετικές από αυτές στις οποίες αναπτύχθηκαν. Μάλιστα, με βάση το πλαίσιο που έχει ήδη διατυπωθεί μπορούν εύκολα να προσαρτηθούν επιπλέον υπο-μοντέλα (κάνοντας συμπληρωματικές παραδοχές), τα οποία είναι χρήσιμα ως εργαλεία μελέτης νέων ιδιοτήτων του μελετώμενου συστήματος. Έτσι, σε αντίθεση με τα εμπειρικά, τα μηχανιστικά μοντέλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για τη μελέτη και κατανόηση των μηγανισμών που διέπουν το εν λόγω σύστημα, όσο και για την παραγωγή αξιόπιστων προβλέψεων υπό ένα μεγάλο εύρος συνθηκών. Ακόμα, η προσαρμογή ενός μοντέλου σε ένα σετ δεδομένων μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους, κάποιοι εκ των οποίων μπορεί να αντιβαίνουν φυσιολογικούς ή φυσικούς κανόνες. Ως εκ τούτου, μια καλή προσαρμογή στα δεδομένα δεν αποτελεί εγγύηση για την ποιότητα του μοντέλου, αφού ένα ενδογενώς ασυνεπές μοντέλο παρέχει μη ικανοποιητική σύνδεση με επεξηγηματικούς μηχανισμούς. Γι' αυτό το λόγο είναι σημαντικό για ένα μηγανιστικό μοντέλο να έχει συνέπεια, κάτι το οποίο έχει προτεραιότητα έναντι του ρεαλισμού. Αυτό δε σημαίνει φυσικά ότι τα μηχανιστικά μοντέλα στερούνται ρεαλισμού, αφού καλά σχεδιασμένα μοντέλα με αυστηρή επιλογή και προσεκτική εκτίμηση παραμέτρων επιτυγχάνουν συχνά καλή προσαρμογή των δεδομένων διατηρώντας ταυτόχρονα τα υπόλοιπα πλεονεκτήματά τους.

#### 1.4.2 Μοντέλα μεταβολισμού στα ψάρια

Τα τελευταία χρόνια υιοθετείται όλα και περισσότερο η έννοια της 'Υδατοκαλλιέργειας Ακριβείας' (Precision Farming), δηλαδή η χρήση μεθόδων και εργαλείων που συντελούν στην αύξηση της παραγωγής, βελτίωση της ακρίβειας των μεθόδων εκτροφής, την ενσωμάτωση αυτοματισμών και τη διασφάλιση της ευζωίας των ψαριών (Antonucci & Costa, 2020, Føre et al., 2017, Macaulay et al., 2021). Σε αυτό το πλαίσιο, η ανάπτυξη μοντέλων που περιγράφουν με αξιοπιστία το μεταβολισμό των ψαριών και μπορούν να προβλέπουν την απόκρισή τους στις περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά και στις συνθήκες εκτροφής, αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι. Μάλιστα, δεδομένων των αναπόδραστων συνεπειών της κλιματικής αλλαγής, η ανάγκη ενσωμάτωσης των θερμοκρασιακών επιπτώσεων στον μεταβολισμό αλλά και γενικότερα της θερμικής καταπόνησης σε αυτά τα μοντέλα καθίσταται ολοένα και πιο επιτακτική. Επιπλέον, πολλοί συγγραφείς διατυπώνουν την αντίληψη ότι μοντέλα ψαριών που μελετούν επιπτώσεις περιβαλλοντικών φαινομένων, όπως της κλιματικής αλλαγής, οφείλουν να είναι μηχανιστικά και να ενσωματώνουν εδραιωμένους φυσιολογικούς μηχανισμούς (Koenigstein et al., 2016, Lefevre et al., 2017, Sarà et al., 2018).

Μοντέλα που προσομοιώνουν την αύξηση του βάρους, τις απαιτήσεις σε τροφή, αλλά και τη σωματική σύσταση έχουν χρησιμοποιηθεί ανέκαθεν στην υδατοκαλλιέργεια (Brigolin et al., 2014, Chahid et al., 2022, Dumas et al., 2010, Zhou et al., 2018). Ωστόσο, η πλειονότητα αυτών είναι εμπειρικά ή ημι-εμπειρικά μοντέλα που στην καλύτερη περίπτωση ενσωματώνουν μόνο αδρά τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και αύξηση των ψαριών. Για την αύξηση του βάρους συγκεκριμένα, που αποτελεί μία από τις πιο χρήσιμες μετρικές στα ψάρια, έχουν προταθεί δεκάδες απλά μοντέλα που κατά κανόνα βασίζονται σε μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (Thornley & France, 2007). Το πιο διαδεδομένο και μελετημένο μοντέλο αύξησης στα ψάρια είναι πιθανόν η εξίσωση von Bertalanffy (1957), που αποτέλεσε για χρόνια τον ακρογωνιαίο λίθο της δυναμικής ιχθυοπληθυσμών, και αποτελεί ακόμα και σήμερα στοιχειώδες κομμάτι πιο πολύπλοκων σύγχρονων μοντέλων. Το μοντέλο του Θερμικού Συντελεστή Αύξησης (TGC-Thermal Growth Coefficient) που εισάγει την έννοια της θερμικής μονάδας για να ποσοτικοποιήσει την επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα αύξησης του βάρους (Dumas et al., 2010), αποτελεί ένα επίσης πολύ διαδομένο μοντέλο στα ψάρια, όπως και η εξίσωση του ειδικού ρυθμού αύξησης (SGR, Specific Growth Rate) που περιγράφει με εκθετικό τρόπο τη μεταβολή του βάρους συναρτήσει του χρόνου. Πληθώρα εμπειρικών μοντέλων έχουν διατυπωθεί επίσης για να περιγράψουν τις απαιτήσεις των ψαριών σε τροφή, τη χρήση μακροθρεπτικών, όπως πρωτεΐνες και λίπη, και τη σωματική σύσταση τα οποία όμως, όπως και τα παραπάνω μοντέλα αύξησης, στερούνται ισχυρού μηχανιστικού υπόβαθρου (Breck, 2014, Lupatsch et al., 2001, Ma et al., 2018, Matthias et al., 2018).

Τέλος, υπάρχει και η κατηγορία των βιοενεργητικών μοντέλων. Αυτά αναφέρονται στην ποσοτική μελέτη των μεταβολών ενέργειας που προκαλούνται από τις μεταβολικές διεργασίες που επιτελούν οι οργανισμοί για να επιβιώσουν, να αναπτυχθούν, και να αναπαραχθούν. Τα μοντέλα που αναπτύσσονται με βάση βιοενεργητικές αρχές χρησιμοποιούν μαθηματικές εξισώσεις για να περιγράψουν ανταλλαγές θερμότητας μεταξύ του οργανισμού και του περιβάλλοντος. Ακρογωνιαίος λίθος αυτών των μοντέλων είναι η αρχή διατήρησης της ενέργειας και γενικά επικεντρώνονται στη μελέτη του ισοζυγίου ενέργειας και μάζας ενός μεμονωμένου ατόμου (ατομικά μοντέλα). Στην πιο απλή τους μορφή κατατάσσονται τα βιοενεργητικά μοντέλα που ακολουθούν την 'παραγοντική προσέγγιση' (factorial approach) (Dumas et al., 2010), τα οποία βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά είδη υδατοκαλλιέργειας (Lupatsch et al., 2003, Nobre et al., 2019, Teles et al., 2011, Zhou et al., 2005). Σύμφωνα με αυτά το ενεργειακό ισοζύγιο ενός ατόμου περιγράφεται από την εξίσωση:

#### $C = F + U + \Delta B + R$

όπου *C* είναι η ενέργεια που προσλαμβάνεται, *F* και *U* είναι οι ενεργειακές απώλειες στα περιττώματα και τις αζωτούχες απεκκρίσεις από τα βράγχια αντίστοιχα,  $\Delta B$  είναι η ενέργεια που αντιπροσωπεύει την αύξηση, και *R* οι ενεργειακές δαπάνες που σχετίζονται με τη διατήρηση, δηλαδή τις διεργασίες επιδιόρθωσης και συντήρησης των κυτταρικών δομών που επιτρέπουν στους οργανισμούς να διατηρηθούν ζωντανοί. Αξίζει να σημειωθεί ότι αν και η παραπάνω προσέγγιση βασίζεται σε έναν ισχυρό μηχανισμό, την αρχή διατήρησης της ενέργειας, οι επιμέρους μεταβλητές περιγράφονται από εξισώσεις που προέρχονται κυρίως από στατιστικές αναλύσεις, το οποίο αποτελεί και συχνό σημείο κριτικής τέτοιου είδους μοντέλων (Dumas et al., 2010). Κατά συνέπεια, ένας περιορισμός αυτών των μοντέλων αποτελεί το ότι δεν μπορούν να αποτυπώσουν ολόκληρο τον κύκλο ζωής των οργανισμών, ενώ η εφαρμογή τους σε διαφορετικά είδη συχνά απαιτεί πρόσθετες θεωρητικές παραδοχές, οι οποίες αυξάνουν την πολυπλοκότητά τους (Nisbet et al., 2012).
Μια άλλη μεγάλη κατηγορία βιοενεργητικών μοντέλων είναι αυτά που πηγάζουν από τη Μεταβολική Θεωρία της Οικολογίας (MTE, Metabolic Theory of Ecology) (Brown et al., 2004). Η βάση αυτού του πλαισίου είναι ότι μεταξύ των διάφορων ταξινομικών ομάδων ο μεταβολισμός καθορίζεται από το τελικό μέγεθος του είδους, ενώ επηρεάζεται και από παράγοντες, όπως η θερμοκρασία. Παρά τις όποιες κριτικές που έχει λάβει σχετικά με τις παραδοχές της, αλλά και την ισχύ στις προβλέψεις της, ειδικότερα για διεργασίες πέραν του βασικού μεταβολικού ρυθμού (Jørgensen et al., 2016, Price et al., 2012), η προσέγγιση αυτή καθώς και μεταγενέστερες βελτιωμένες διατυπώσεις της, βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στην οικολογία, καθώς δίνουν αξιόπιστα αποτελέσματα για συγκρίσεις μεταξύ ειδών (Bernhardt et al., 2018, Rubalcaba et al., 2020).

Τη δεκαετία του 1990, υπήρξε μεγάλη απήγηση του μοντέλου «Wisconsin» το οποίο, μαζί με παρόμοια μοντέλα που αναπτύχθηκαν την ίδια εποχή, αποτέλεσαν σταθμό για τη βιοενεργητική μελέτη των ψαριών (Hanson et al., 1997, Hewett & Johnson, 1992, Jørgensen et al., 2016). Παρότι τα μοντέλα αυτά ήταν απλά στη βασική δομή τους, λαμβάναν προσεκτικά υπόψη όλες τις διεργασίες χρήσης ενέργειας ενός οργανισμού, από την κατάποση και την πέψη μέχρι τις απεκκρίσεις, την αύξηση και την αναπαραγωγή (Schiettekatte et al., 2020). Καθώς το μοντέλο προσαρμόστηκε σταδιακά σε όλο και περισσότερα είδη, οι παράμετροι που έλειπαν από ένα είδος μπορούσαν να αντικατασταθούν από αυτές ενός συγγενικού ή οικολογικά παρόμοιου είδους, αυξάνοντας έτσι τη γενικότητα του και κάνοντάς το ιδιαίτερα ελκυστικό για τη μελέτη του μεταβολισμού. Παράλληλα και λίγο αργότερα, ο Kooijman ανέπτυξε τη θεωρία Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου (DEB, Dynamic Energy Budget theory) (Kooijman, 2010, 1993). Σε αντίθεση με το μοντέλο Wisconsin που εστίαζε σε εμπειρικά εκτιμώμενους ρυθμούς για τις διάφορες μεταβολικές διεργασίες, στόχος της DEB ήταν να καταλήξει σε μια θεμελιώδη περιγραφή της βιοενεργητικής ισορροπίας του ατόμου με καθολική εφαρμογή σε όλους τους οργανισμούς. Αυτός ο φιλόδοξος στόχος απαιτούσε μια πιο θεωρητική προσέγγιση, με αφηρημένες υποθέσεις σχετικά με τις θεμελιώδεις οργανωτικές δομές της ζωής, όπως θα αναλυθεί και σε επόμενες παραγράφους. Αξιοσημείωτο είναι, ωστόσο, ότι παρά τη διαφορετική προσέγγιση και πολυπλοκότητα της DEB από τα προηγούμενα μοντέλα, η υποτιθέμενη ομοιότητα μεταξύ των οργανισμών είχε την ίδια συνέπεια. Δηλαδή, ότι δεν είναι γνωστό για ένα είδος μπορεί να υποτεθεί από τη γνώση άλλων ειδών, αυξάνοντας σημαντικά την αποδοχή και εφαρμογή της θεωρίας ως εργαλείο μελέτης του μεταβολισμού.

### 1.4.3 Θεωρία Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου (DEB theory)

Η θεωρία DEB αποτελεί ένα ισχυρό θεωρητικό πλαίσιο που περιγράφει το ενεργειακό ισοζύγιο ενός οργανισμού υπό δυναμικά μεταβαλλόμενες συνθήκες. Αναπτύχθηκε και πρωτοδιατυπώθηκε από τον Kooijman (2010, 1993) και αποτελεί πλέον μια διαδεδομένη προσέγγιση μελέτης του μεταβολισμού με ευρεία εφαρμογή σε πολλές ταξινομικές ομάδες (Dong et al., 2022, Gergs & Baden, 2021, Lavaud et al., 2020, Ren et al., 2020). Κεντρική ιδέα της θεωρίας DEB είναι η αρχή διατήρησης της ενέργειας και της μάζας, κάτι που μπορεί να φαντάζει τετριμμένο, αλλά ωστόσο παραβιάζεται συχνά από τα περισσότερα υπάρχοντα βιολογικά μοντέλα. Αντικείμενο και στόχος της θεωρίας είναι η διατύπωση ενός συνεκτικού υποβάθρου που επιτρέπει την ποσοτικοποίηση των βιοενεργητικών απαιτήσεων ενός οργανισμού και τη σύνδεση των διάφορων επιπέδων βιολογικής οργάνωσης μεταξύ τους από τα μόρια μέχρι τους πληθυσμούς. Έτσι, κάνοντας χρήση ισοζυγίων μάζας και ενέργειας, η θεωρία παρέχει ένα ποιοτικό και ποσοτικό πλαίσιο για τη μελέτη του μεταβολισμού ενός οργανισμού σε ατομικό επίπεδο. Βασισμένη σε απλούς φυσιολογικούς μηγανισμούς που περιγράφουν την πρόσληψη και γρήση ενέργειας, η θεωρία επιτρέπει την κατασκευή ατομικών μοντέλων (DEB μοντέλα) τα οποία μπορούν να προσδιορίσουν ποσοτικά σημαντικές διεργασίες του οργανισμού όπως η σίτιση, η αφομοίωση ενέργειας, η ανάπτυξη, η αύξηση, η διατήρηση και η αναπαραγωγή. Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούν διαφορικές εξισώσεις για να περιγράψουν τη μεταβολή των παραπάνω διεργασιών στη πορεία του χρόνου και συνεπώς οι λύσεις τους αναπαριστούν την πορεία του ατόμου στη διάρκεια της ζωής του μέσα σε ένα δυναμικά μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Μάλιστα, ακριβώς αυτή η ικανότητα του βιοενεργητικού πλαισίου της DEB θεωρίας να περιγράψει αλλαγές στο μεταβολισμό των οργανισμών συναρτήσει δυναμικών μεταβολών στο περιβάλλον τους, όπως της θερμοκρασίας και της διαθέσιμης τροφής, την έχει καθιερώσει ως μια ευρέως αποδεκτή και αξιόπιστη προσέγγιση για τη μελέτη του μεταβολισμού των ψαριών τόσο σε άγριους πληθυσμούς όσο και σε εκτρεφόμενα ψάρια. Παραδείγματα περιλαμβάνουν είδη όπως ο σολομός του Ατλαντικού (Føre et al., 2016), ο γαύρος (Pecquerie et al., 2009), ο σαργός (Serpa et al., 2013), αλλά και μελέτες επιπτώσεων κλιματικής αλλαγής σε μεσογειακά είδη (Sarà et al., 2018, Stavrakidis-Zachou et al., 2021a).

# 1.5 Σκοπός της διατριβής

Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν, η επικείμενη κλιματική αλλαγή αναμένεται να επηρεάσει σημαντικά τα θαλάσσια οικοσυστήματα της Μεσογείου. Υπό αυτό το πρίσμα, καθίσταται σαφής η ανάγκη μελέτης αλλά και πρόβλεψης των θερμικών αποκρίσεων των οργανισμών που διαβιούν σε αυτή, ιδιαιτέρως αν αυτοί αποτελούν είδη με σημαντικό εμπορικό ενδιαφέρον, όπως τα είδη υδατοκαλλιέργειας. Η παρούσα διατριβή επικεντρώνεται στη μελέτη της επίδρασης υψηλών θερμοκρασιών στο μεταβολισμό δύο εκτρεφόμενων ψαριών, του λαβρακιού και του κρανιού. Η επιλογή των ειδών έγινε τόσο λόγω του σημαντικού τους ρόλου στην υδατοκαλλιέργεια όσο και των χαρακτηριστικών τους καθώς αποτελούν είδη με μεγάλο εύρος θερμικής ανοχής (ευρύθερμα) αλλά σημαντικές διαφορές στον τρόπο ζωής τους και κατ' επέκταση στο μεταβολικό τους προφίλ. Επειδή μια ολιστική προσέγγιση προετοιμασίας και αντιμετώπισης των μελλοντικών κλιματικών προκλήσεων απαιτεί τόσο την κατανόηση των αποκρίσεων των οργανισμών στη θερμική καταπόνηση όσο και την ανάπτυξη κατάλληλων εργαλείων, όπως μαθηματικά μοντέλα, η παρούσα εργασία υιοθετεί ένα συνδυασμό πειραματικών προσεγγίσεων και μαθηματικής μοντελοποίησης οι οποίες διαφθρώνονται στα Κεφάλαια 2 και 3 αντίστοιχα.

Σχετικά με την πειραματική προσέγγιση, στόχος είναι ο προσδιορισμός των ορίων θερμικής ανοχής των δύο ειδών κάτω από συνθήκες χρόνιας και οξείας θερμικής καταπόνησης. Συγκεκριμένα, τα κύρια ερωτήματα αφορούν στη διερεύνηση των φυσιολογικών τους αποκρίσεων στην αύξηση της θερμοκρασίας, στη μελέτη των επιπτώσεων αυτών των αποκρίσεων στο επίπεδο του οργανισμού και στις συνολικές του επιδόσεις, στον καθορισμό κρίσιμων τιμών και στον προσδιορισμό των θερμικών ορίων ανοχής. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν οι θερμοκρασιακές επιπτώσεις σε ποικίλα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης των δύο ειδών λαμβάνοντας υπόψη τόσο τις μοριακές και βιοχημικές αποκρίσεις τους κάτω από χρόνια θερμική έκθεση, όσο και επιπτώσεις στην αύξηση και στις συνολικές τους επιδόσεις. Ειδικότερα, προσδιορίστηκε η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη θερμική καταπόνηση, καθώς και ένα σύνολο από βιοχημικούς, μεταβολικούς, ορμονικούς και ενζυμικούς δείκτες στο αίμα όπως επίσης μελετήθηκαν και οι επιπτώσεις σε ολόκληρο τον οργανισμό λαμβάνοντας υπόψη το μεταβολικό ρυθμό, τη σωματική σύσταση και ένα σύνολο ζωοτεχνικών παραμέτρων. Επιπλέον προσδιορίστηκε η θερμική ανοχή των δύο ειδών υπό συνθήκες οξείας θερμικής καταπόνησης επιστρατεύοντας δυναμικές μεθόδους. Όσον αφορά τη μαθηματική μοντελοποίηση, στόχος είναι η διερεύνηση των σχέσεων που συνδέουν τη θερμοκρασία με το μεταβολισμό των δύο ειδών και η προσομοίωση των μεταβολικών διεργασιών υπό το ενιαίο βιοενεργητικό πλαίσιο της DEB θεωρίας. Για αυτό το λόγο αναπτύχθηκαν και παραμετροποιήθηκαν DEB μοντέλα για το λαβράκι και τον κρανιό χρησιμοποιώντας βιβλιογραφικά δεδομένα, αλλά και δεδομένα που προέκυψαν από την πειραματική διαδικασία. Η φιλοδοξία στην κατασκευή αυτών των μοντέλων είναι να περιγράψουν τις ροές ενέργειας και μάζας των ψαριών για όλα τα στάδια του κύκλου ζωής τους συναρτήσει της θερμοκρασίας και να αποτελέσουν τόσο εργαλεία πρόβλεψης των επιδράσεων της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό, αλλά και εργαλεία περαιτέρω μελέτης επιμέρους μεταβολικών μηχανισμών. Μάλιστα, σε αυτή την κατεύθυνση αναπτύχθηκε και ένα υπο-μοντέλο που προσομοιώνει αλλαγές στη σωματική σύσταση των ψαριών εξυπηρετώντας έτσι την ανάγκη διερεύνησης μεταβολών στα ενεργειακά αποθέματα τους υπό συνθήκες χρόνιας θερμικών ορίων με όρους DEB υπό συνθήκες οξείας καταπόνησης

Συνδυάζοντας πειραματική γνώση και μαθηματική διερεύνηση, η παρούσα διατριβή αποσκοπεί στο να συνεισφέρει στην κατανόηση του ρόλου της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό δύο σημαντικών εκτρεφόμενων ψαριών. Παρέχοντας καινούργια πειραματικά δεδομένα σχετικά με τις θερμικές αποκρίσεις και τα όρια τους, καθώς και μηχανιστικές ερμηνείες για τη σύνδεση των μεταβολικών διεργασιών με τη θερμοκρασία, η εργασία στοχεύει στην αποσαφήνιση όψεων της θερμικής βιολογίας των ψαριών συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη μιας ολιστικής προσέγγισης για την κατανόηση και πρόβλεψη των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής στην υδατοκαλλιέργεια.

# Κεφάλαιο<sup>2</sup>

# 2 Πειραματική προσέγγιση

# 2.1 Εισαγωγή

Τα κύρια εκτρεφόμενα είδη στη Μεσόγειο (λαβράκι - τσιπούρα) έχουν μελετηθεί εκτενώς λόγω της μεγάλης οικονομικής σημασίας τους. Ενδεικτικό είναι άλλωστε το γεγονός ότι ό όγκος της διαθέσιμης βιβλιογραφίας για το λαβράκι είναι τεράστιος, με δεκάδες καινούργιες μελέτες να δημοσιεύονται ετησίως και τον συνολικό τους αριθμό την τελευταία δεκαετία να ξεπερνά τις 1.500 σύμφωνα με τη μηχανή αναζήτησης βιβλιογραφίας Scopus. Από την άλλη πλευρά, σε σύγκριση με το λαβράκι, ο κρανιός έχει μελετηθεί ελάχιστα, αφού η εμπορική του παραγωγή δεν ξεπερνά σε διάρκεια τις δύο δεκαετίες. Ωστόσο, ως αναδυόμενο είδος έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον και οι μελέτες σχετικά με την εκτροφή του έχουν αυξηθεί εκθετικά τα τελευταία χρόνια ξεπερνώντας τις 100 ετησίως σε σχέση με μόλις 20 την περίοδο 2005 - 2010. Όμως, παρά τον αυξανόμενο όγκο βιβλιογραφίας, ο εντοπισμός και η αντιμετώπιση ελλείψεων που αφορούν τη θερμική βιολογία και των δύο ειδών, παραμένει καίριας σημασίας.

Στο λαβράκι, οι θερμικές αποκρίσεις του είδους έχουν μελετηθεί για ένα μεγάλο φάσμα θερμοκρασιών τόσο σε μεγάλες όσο και μικρές χρονικές κλίμακες. Ωστόσο, κρίσιμες πληροφορίες κοντά στο άνω άκρο του εύρους ανοχής του είδους παραμένουν ελλιπώς τεκμηριωμένες. Στο φυσικό του περιβάλλον το λαβράκι εκτίθεται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται συνήθως από 8 έως 26 °C (Dülger et al., 2012), ένα εύρος στο οποίο η αύξηση της θερμοκρασίας έχει συσχετιστεί θετικά με τον αυξητικό ρυθμό, την πρόσληψη τροφής, την ταχύτητα πέψης και την μετατρεψιμότητα (Alami-Durante et al., 2006, Bouaziz et al., 2017, Maricchiolo et al., 2011). Περαιτέρω πειραματισμοί σε θερμοκρασίες μεταξύ 6 – 30 °C, έχουν επίσης δώσει πληροφορίες σχετικά με το εύρος της θερμικής ανοχής του είδους (Claireaux et al., 2006, Islam et al., 2020a, Ozolina et al., 2016, Person-Le Ruyet et al., 2004). Συγκεκριμένα, οι Person-Le Ruyet et al. (2004) αναφέρουν ότι οι ρυθμοί αύξησης, απέκκρισης αζώτου και κατανάλωσης οξυγόνου φτάνουν τις μέγιστες τιμές στους 26 - 27 °C προτού παρουσιάσουν επιδείνωση, υποδεικνύοντας έτσι το

 $<sup>^2</sup>$ Μέρος των αποτελεσμάτων του Κεφαλαίου 2 περι<br/>έχεται στις δημοσιεύσεις των Stavrakidis-Zachou et al. (2021b, 2022)

θερμικό βέλτιστο για το είδος. Τέλος, πρόσφατες προσπάθειες όπως αυτές των Islam et al. (2020a, 2020b, 2020c) επικεντρώνονται σε θερμοκρασίες εγκλιματισμού έως και 32 °C σε προνύμφες λαβρακιού. Ωστόσο, οι υπάρχουσες μελέτες στο ανώτερο άκρο του εύρους ανοχής περιορίζονται σε ψάρια μικρού μεγέθους και μικρές χρονικές κλίμακες, ενώ οι πληροφορίες σχετικά με τις επιδόσεις, την υγεία, τις φυσιολογικές αποκρίσεις και τη θερμική ανοχή παρουσιάζουν σημαντικές ελλείψεις.

Λόγω της φύσης της εκτροφής σε κλωβούς, όπου η περιβαλλοντική θερμοκρασία βρίσκεται εκτός διαχειριστικού ελέγχου από τον άνθρωπο, οι σχετικές μελέτες έχουν προσανατολιστεί σε μεγάλο βαθμό, και για τα δύο είδη, στα πρώιμα στάδια εκτροφής όπου υπάρχει μεγαλύτερος έλεγχος των πειραματικών συνθηκών. Ωστόσο, η μελέτη των επιδράσεων της παρατεταμένης έκθεσης σε υψηλότερες θερμοκρασίες και για μεγαλύτερα ψάρια, προκύπτει ως αναγκαιότητα για την υδατοκαλλιέργεια. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για την περίπτωση του κρανιού, του οποίου οι θερμικές αποκρίσεις είναι λιγότερο γνωστές. Αν και υπάρχουν μελέτες σχετικά με τους ρυθμούς αύξησης και την αναπαραγωγή του κρανιού σε λιμνοθάλασσες, ιχθυοκλωβούς ή συστήματα με επανακυκλοφορία νερού υπό κυμαινόμενες θερμοκρασίες (EL-Shebly et al., 2007, Fountoulaki et al., 2017, Mesaa et al., 2014, Mylonas et al., 2013, Vargas-Chacoff et al., 2014), η επίδραση της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό του είδους δεν έχει μελετηθεί ενδελεχώς, ενώ μόλις σχετικά πρόσφατα διερευνήθηκε το προτιμώμενο εύρος θερμοκρασίας το οποίο σύμφωνα με τους Kır et al. (2017) εντοπίζεται μεταξύ 26 και 30 °C για ιχθύδια κρανιού.

Ως εκ τούτου, υπό το πρίσμα όσων παρουσιάστηκαν στο Κεφάλαιο 1 είναι προφανές ότι και για τα δύο είδη απαιτείται περαιτέρω πειραματισμός για να αποσαφηνιστούν οι αποκρίσεις τους σε υψηλές θερμοκρασίες εγκλιματισμού, οι οποίες όχι μόνο θα επιβεβαιώσουν προηγούμενα ευρήματα, αλλά και θα συμπληρώσουν υπάρχοντα κενά γνώσης. Σε αυτό το Κεφάλαιο παρουσιάζονται η μεθοδολογία και τα αποτελέσματα δύο ξεχωριστών θερμοκρασιακών πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν για το λαβράκι και τον κρανιό, αντίστοιχα, στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιέργειας (Ι.ΘΑ.Β.Β.ΥΚ.). Στόχος ήταν να μελετηθούν οι αποκρίσεις και τα όρια ανοχής των ειδών υπό χρόνια και οξεία θερμική καταπόνηση σε χρονικές κλίμακες και μεγέθη που έχουν άμεση συνάφεια με τη μελέτη της κλιματικής αλλαγής. Όσον αφορά τη χρόνια θερμική έκθεση, ελέγχθηκαν τρεις θερμοκρασίες εγκλιματισμού και προσδιορίστηκαν μεταβολές σε έναν αριθμό βιοδεικτών, με απώτερο στόχο τη σύνδεσή τους με τις συνολικές επιδόσεις σε επίπεδο ατόμου. Η επιλογή των πειραματικών θερμοκρασιών έγινε με τέτοιο τρόπο, ώστε να διερευνηθούν κλίμακες με οικολογικό και κλιματικό ενδιαφέρον. Δηλαδή, η χαμηλότερη θερμοκρασία ορίστηκε στους 24 °C, καθώς αντιπροσωπεύει μια τυπική καλοκαιρινή θερμοκρασία που εμφανίζεται σε όλη τη γεωγραφική κατανομή των ειδών και μπορεί επομένως να λειτουργήσει ως σημείο αναφοράς για περαιτέρω συγκρίσεις. Ακολούθως, η ενδιάμεση θερμοκρασία (28 - 29 °C) αντιπροσωπεύει τις υψηλότερες θερμοκρασίες που καταγράφονται αυτήν τη στιγμή σε ορισμένα μέρη της Μεσογείου και, επομένως, παρέχει πληροφορίες για δυνητικές θερμοκρασιακές επιδράσεις που θα εμφανιστούν μέσα στα επόμενα χρόνια. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε και μια αρκετά υψηλότερη θερμοκρασία (32 - 34 °C) για να προσομοιώσει υποθετικές, αλλά οικολογικά σχετικές, θερμοκρασιακές κλίμακες που προβλέπονται από τα κλιματολογικά μοντέλα εντός των επόμενων δεκαετιών.

Σε αντίθεση με τις περισσότερες προϋπάρχουσες μελέτες που επικεντρώνονται σε βραχυπρόθεσμες θερμικές επιδράσεις στα άκρα του εύρους ανοχής, η διάρκεια των παραπάνω πειραμάτων ορίστηκε σε τρεις μήνες, επιτρέποντας επαρκή χρόνο για την αξιολόγηση των χρόνιων επιπτώσεων της θερμοκρασίας στους επιλεγμένους δείκτες και στην επίδοση των ψαριών. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι οι περισσότερες μελέτες για τα είδη υπό υψηλές θερμοκρασίες περιορίζονται σε προνύμφες και ιχθύδια, χρησιμοποιήσαμε εδώ μεγαλύτερα άτομα, μεγέθους που συμπίπτει με αυτό της εκτροφής σε ιχθυοκλωβούς. Ένας τελικός στόχος των πειραμάτων ήταν η διερεύνηση της ικανότητας των ψαριών να ανταπεξέλθουν σε οξεία θερμική καταπόνηση, το οποίο έγινε μέσω του προσδιορισμού της μέγιστης κρίσιμης θερμοκρασίας (CT<sub>max</sub>). Υπό αυτό το πρίσμα, ελέγχθηκε, επίσης, η υπόθεση ότι αυτή η ικανότητα συσχετίζεται θετικά με το θερμικό ιστορικό (θερμοκρασία εγκλιματισμού) των ψαριών.

# 2.2 Υλικά και Μέθοδοι

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στα AquaLabs του Ι.ΘΑ.Β.Β.ΥΚ., ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Η εγκατάσταση των AquaLabs είναι πιστοποιημένη για εκτροφή και πειραματισμό ψαριών με κωδικό EL91-BIOexp-04. Το πειραματικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την επιτροπή βιοηθικής του Ινστιτούτου και την Δ/νση Κτηνιατρικής της Περιφέρειας Κρήτης με Α.Π. 255344/29-11-2017. Οι αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις καθώς και μελέτη της γονιδιακής έκφρασης έγιναν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

# 2.2.1 Περιγραφή συστήματος εκτροφής

Τα πειράματα διεξήχθησαν σε θαλάσσια συστήματα υδατοκαλλιέργειας με επανακυκλοφορία νερού (Recirculating Aquaculture System, RAS). Στις εγκαταστάσεις υπάρχουν τρία τέτοια ανεξάρτητα συστήματα, καθένα εκ των οποίων χρησιμοποιήθηκε για μια πειραματική συνθήκη. Όπως φαίνεται και στη σχηματική απεικόνιση (Εικόνα 2-1), κάθε RAS αποτελείται από τρεις δεξαμενές συνδεδεμένες παράλληλα σε ένα σύστημα επεξεργασίας νερού. Οι δεξαμενές είναι κυλινδροκωνικές με διάμετρο 1,5 m και χωρητικότητα 2 m<sup>3</sup>. Το σύστημα επεξεργασίας νερού αποτελείται από ένα βιοφίλτρο χωρητικότητας 2 m<sup>3</sup>, τη δεξαμενή βιοφίλτρου (sump) χωρητικότητας 0,5 m<sup>3</sup> και ένα φίλτρο περιστροφικών τυμπάνων τύπου drum (FAIVRE, μοντέλο: FT04001P5AM0021, Εικόνα 2-2).



Εικόνα 2-1 Σχηματική απεικόνιση του RAS κυκλώματος. Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση του νερού. Figure 2-1 Schematic representation of the RAS. Arrows depict the water flow.

Ο συνολικός όγκος νερού στο κύκλωμα ανέρχεται στα περίπου 8.5 m<sup>3</sup>. Μια μικρή ποσότητα, που ανέρχεται στο 10% του συνολικού όγκου, ανανεώνεται ημερησίως με θαλασσινό νερό από γεώτρηση που διοχετεύεται στη δεξαμενή του βιοφίλτρου, ενώ το πλεόνασμα εκρέει στην αποχέτευση από υπερχείλιση στο πάνω μέρος της δεξαμενής. Μέσω μιας αντλίας νερού (KRIPSOL, μοντέλο: KSE100), το νερό προωθείται στο βιοφίλτρο όπου πραγματοποιείται η βιολογική φίλτρανση, καθώς και η θερμορύθμιση του συστήματος, και στη συνέχεια διοχετεύεται στις δεξαμενές των 2 m<sup>3</sup>. Το νερό από τις τρεις δεξαμενές υπερχειλίζει σε μια κοινή έξοδο, η οποία το επιστρέφει στη δεξαμενή του βιοφίλτρου, αφού προηγηθεί μηχανική φίλτρανση και

απομάκρυνση στερεών στο φίλτρο περιστρεφόμενων τυμπάνων. Νερό μπορεί να απομακρυνθεί επίσης και από το κάτω μέρος των δεξαμενών με χρήση χειροκίνητων βαλβίδων.



Εικόνα 2-2 Φωτογραφίες του RAS κυκλώματος όπου φαίνονται οι τρεις κυλινδροκωνικές δεζαμενές, το βιοφίλτρο και το φίλτρο περιστρεφόμενων τυμπάνων.

Figure 2-2 Photos of the RAS which depict the three cylindroconical tanks, the biofilter, and the mechanical drum filter.

Κάθε δεξαμενή 2 m<sup>3</sup> είναι εξοπλισμένη με έναν αισθητήρα LDO (Hach-Lange) τοποθετημένο 10 cm κάτω από την επιφάνεια του νερού. Ο αισθητήρας καταγράφει συνεχώς τα επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου και τη θερμοκρασία του νερού, και τα δεδομένα μεταφέρονται σε πραγματικό χρόνο μέσω καλωδίου σε μια μονάδα επεξεργασίας (SC1000 multi-parameter universal controller, Hach-Lange) για εμφάνιση και αποθήκευση. Η παρακολούθηση αυτών των παραμέτρων επιτρέπει έγκαιρους χειρισμούς όταν αυτό απαιτηθεί. Συγκεκριμένα, σε περιπτώσεις που ο κορεσμός οξυγόνου μειωθεί κάτω από το 80%, καθαρό οξυγόνο παρέχεται απευθείας στις δεξαμενές μέσω ελαστικού σωλήνα και διαχέεται με ξύλινες αερόπετρες. Η δοσολογία οξυγόνου ρυθμίζεται χειροκίνητα μέσω των αντίστοιχων δοσομετρικών βαλβίδων του σωλήνα παροχής.

## 2.2.2 Περιγραφή των πειραμάτων

#### Λαβράκι

Το πείραμα του λαβρακιού πραγματοποιήθηκε την άνοιξη του 2019 μεταξύ Απριλίου και Ιουλίου. Τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από την πιλοτικής κλίμακας μονάδα ιχθυοκλωβών του ΙΘΑΒΒΥΚ στην περιοχή της Σούδας, Ν. Χανίων. Με την άφιξή τους, τα ψάρια υποβλήθηκαν σε αντιπαρασιτική θεραπεία (μπάνιο φορμόλης και θειικού χαλκού, CuSO<sub>4</sub>) για να διασφαλιστεί η μη επιμόλυνση των πειραματικών εγκαταστάσεων και η καλή κατάσταση της υγείας τους για τη διεξαγωγή του πειράματος. Μετά από μια περίοδο προσαρμογής διάρκειας τριών εβδομάδων, τα ψάρια κατανεμήθηκαν στις εννέα δεξαμενές 2 m<sup>3</sup> των RAS κυκλωμάτων. Συνολικά, τοποθετήθηκαν 62 ψάρια σε κάθε δεξαμενή τα οποία είχαν μέσο βάρος και ολικό μήκος 135,3 ± 1,9 g και 23,3 ± 0,8 cm, αντίστοιχα. Η αρχική θερμοκρασία στις δεξαμενές ρυθμίστηκε στη θερμοκρασία των 20 °C, που ήταν η εποχιακή θερμοκρασία της θάλασσας εκείνη την περίοδο, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί η περιβαλλοντική καταπόνηση στα ψάρια. Με την έναρξη του πειράματος, προχωρήσαμε σε μια σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 1 °C ανά ημέρα, έως την επίτευξη των πειραματικών θερμοκρασιών 24, 28, και 33 °C στα τρία RAS αντίστοιχα, σχηματίζοντας έτσι τις τρεις πειραματικές ομάδες Λ1, Λ2, και Λ3. Η διακύμανση της θερμοκρασίας σε κάθε πειραματική συνθήκη ήταν μέχρι 1 °C.

#### Κρανιός

Το πείραμα του κρανιού πραγματοποιήθηκε μεταξύ Οκτωβρίου 2018 και Φεβρουαρίου 2019. Η προμήθεια των νεαρών ατόμων κρανιού που χρησιμοποιήθηκαν έγινε επίσης από την πιλοτική μονάδα ιχθυοκλωβών του Ινστιτούτου στην περιοχή της Σούδας. Η μεταφορά τους στις χερσαίες εγκαταστάσεις των AquaLabs συνοδεύτηκε από αντιβιοτική (οξυτετρακυκλίνη) και αντιπαρασιτική (μπάνιο σε γλυκό νερό για 10 λεπτά) προληπτική θεραπεία πριν γίνει η διανομή των ψαριών στις δεξαμενές των 2 m<sup>3</sup>. Η θερμοκρασία στις δεξαμενές ρυθμίστηκε στη εποχιακή θερμοκρασία της θάλασσας εκείνη την περίοδο (23 °C) και τα ψάρια αφέθηκαν για εγκλιματισμό για μια περίοδο δύο εβδομάδων πριν από την έναρξη του πειράματος. Κατά τη διάρκεια του εγκλιματισμού, τα ψάρια παρακολουθούνταν καθημερινά για ενδείξεις μη φυσιολογικής συμπεριφοράς, απομακρύνονταν τυχόν θνησιμότητες και τροφή παρέχονταν με το χέρι σύμφωνα με την όρεξή τους. Την ημέρα έναρξης του πειράματος, όλα τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν και μετρήθηκαν ατομικά ως προς το βάρος και το ολικό τους μήκος. Το μέγεθος των ψαριών ήταν κατά μέσο όρο 149 ± 2,3g και 22,4 ± 1,1 cm, ενώ ο συνολικός αριθμός ατόμων ανά δεξαμενή ανήλθε στα 60.

Από εκείνη την ημέρα και έπειτα, η θερμοκρασία σε κάθε RAS αυξήθηκε με ρυθμό 1 °C ημερησίως έως ότου επιτεύχθηκαν οι θερμοκρασίες των 24, 29 και 34 °C, σχηματίζοντας έτσι τις πειραματικές ομάδες K1, K2, και K3. Προβληματισμοί για την ολοκλήρωση του πειράματος αλλά

και για την ευζωία των ψαριών λόγω της έντονης θνησιμότητας που καταγράφηκε τους δυο πρώτους μήνες οδήγησαν στην απόφαση για μείωση της πειραματικής θερμοκρασίας K3 κατά 0,5 °C κατά τον τελευταίο μήνα του πειράματος.

#### 2.2.3 Εκτροφή ψαριών και δειγματοληψίες

Η σίτιση των ψαριών γινόταν με το χέρι δύο φορές τη μέρα (στις 9:00 και στις 15:00) καθημερινά εκτός της Κυριακής, ενώ το τάισμα διαρκούσε 10 με 20 λεπτά μέχρι τον οπτικό κορεσμό των ψαριών. Η ποσότητα ημερήσιας κατανάλωσης υπολογιζόταν στο τέλος της ημέρας, ενώ τυχόν υπολείμματα μη καταναλωθείσας τροφής συλλεγόταν από τη βαλβίδα εξόδου στο κάτω μέρος των δεξαμενών και ζυγιζόταν, ώστε να αφαιρεθούν από τον υπολογισμό. Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε ήταν μορφής πέλετ μεγέθους 4,5 mm και περιείχε 45 % ακατέργαστη πρωτεΐνη και 16 Π% ακατέργαστες λιπαρές ουσίες (προμηθευτής, ΙΡΙΔΑ, ΑΕ). Ο κύκλος φωτοπεριόδου ρυθμίστηκε στις 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι (12L:12D). Τυχόν θνησιμότητες αφαιρούνταν καθημερινά από τις δεξαμενές και το βάρος των νεκρών ψαριών καταγραφόταν.

Πέραν της παρακολούθησης σε πραγματικό χρόνο της θερμοκρασίας και των επιπέδων διαλυμένου οξυγόνου με το αυτοματοποιημένο σύστημα (Hach-Lange SC1000), βασικές παράμετροι ποιότητας του νερού παρακολουθούνταν επίσης σε περιοδική βάση και ανάλογοι χειρισμοί πραγματοποιούνταν όπου αυτό κρινόταν απαραίτητο. Αυτό γινόταν για να διασφαλιστεί η σταθερότητα των πειραματικών συνθηκών καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα, μετρήσεις pH λαμβάνονταν χειροκίνητα με φορητό πεχάμετρο (Hach-Lange, HQ40d) δύο φορές τη βδομάδα, ενώ οι ενώσεις του κύκλου του αζώτου και η αλατότητα μετρούνταν σε εβδομαδιαία βάση. Ειδικότερα, τα επίπεδα αμμωνίας (*NH*<sub>3</sub>), νιτρωδών (*NO*<sub>2</sub><sup>-</sup>), και νιτρικών (*NO*<sub>3</sub><sup>-</sup>) προσδιορίζονταν με φασματοφωτομετρικές μεθόδους με αντιδραστήρια Permachem της Hach (μέθοδοι Nessler διαζώτωσης του σουλφανιλαμιδίου και αναγωγής του καδμίου, αντίστοιχα), και η αλατότητα με διαθλασίμετρο σε δείγματα νερού των δεξαμενών. Αυτές οι παράμετροι δεν υπερέβησαν τα τυπικά ασφαλή όρια (*NH*<sub>3</sub> < 0.05 mg L<sup>-1</sup>, *NO*<sub>2</sub><sup>-</sup> < 0.1 mg L<sup>-1</sup>, *NO*<sub>3</sub><sup>-</sup> < 100 mg L<sup>-1</sup>) κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Όσον αφορά τις δειγματοληψίες, αυτές λάμβαναν χώρα σε μηνιαία βάση, γεγονός που οδήγησε σε συνολικά τρεις δειγματοληψίες στις 30, 60 και 90 ημέρες, από την έναρξη του πειράματος, δηλαδή αφότου κάθε ομάδα έφτασε στην αντίστοιχη πειραματική θερμοκρασία. Σε κάθε δειγματοληψία, όλα τα ψάρια συλλέγονταν και αναισθητοποιούνταν. Για τη σύλληψή τους, κατασκευάστηκε ειδικός δειγματολήπτης από δίχτυ και ανοξείδωτο σκελετό (Εικόνα 2-3). Ο δειγματολήπτης τοποθετούνταν στο κέντρο της δεξαμενής με το σταθερό του μέρος να εφάπτεται των τοιχωμάτων, ενώ η κινητή του πλευρά χρησιμοποιούνταν για να οδηγήσει και να παγιδεύσει τα ψάρια σε ένα μικρό τμήμα της δεξαμενής. Από εκεί τα ψάρια συλλέγονταν με απόχη και αναισθητοποιούνταν σε διάλυμα τρικαΐνης (Tricaine methane-sulfonate, MS-222) συγκέντρωσης 75 mg L<sup>-1</sup> σε μικρή δεξαμενή 60 λίτρων. Στη συνέχεια, όλα τα ψάρια μετρούνταν ατομικά ως προς το βάρος (W) και το ολικό τους μήκος (TL) πριν επιστραφούν στις δεξαμενές τους.



Εικόνα 2-3 Ο δειγματολήπτης για τις δεζαμενές των  $2m^3$ . Figure 2-3 The sampling device used for the  $2m^3$  tanks.

Επιπλέον, 15 ψάρια ανά πειραματική συνθήκη (πέντε ανά δεξαμενή) χρησιμοποιούνταν για συλλογή αίματος με κοιλιακή προσέγγιση από την ουριαία φλέβα μέσω ηπαρινισμένων συρίγγων. Το αίμα τοποθετούνταν άμεσα σε επίσης ηπαρινισμένα σωληνάρια τύπου Eppendorf προς αποφυγή πήξης. Στη συνέχεια, τα ψάρια θυσιάζονταν με ένα χτύπημα στο κεφάλι και λαμβάνονταν δείγματα από την καρδιά, το ήπαρ και τον σπλήνα. Συγκεκριμένα, το βάρος της καρδιάς και του ήπατος μετρήθηκαν με ακρίβεια 0,01 g και στη συνέχεια δείγματα ήπατος και σπλήνα καταψύχθηκαν σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκαν σε υπερκαταψύκτη στους -80 °C. Μετά από προσδιορισμό των αιματολογικών παραμέτρων, το αίμα φυγοκεντρούνταν στα 2.000 g και το υπερκείμενο πλάσμα αφαιρούταν και αποθηκευόταν στους -20 °C μέχρι περαιτέρω ανάλυση. Επιπλέον, στο τέλος του πειράματος, πέντε ψάρια ανά θερμοκρασιακή συνθήκη συλλέχθηκαν τυχαία, θανατώθηκαν, και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (-20 °C) για μετέπειτα προσδιορισμό της σωματικής σύστασης.

## 2.2.4 Εκτίμηση παραμέτρων αύξησης

Για την αύξηση και τις συνολικές επίδοσεις των ψαριών κατά τη διάρκεια των πειραμάτων εκτιμήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι. Συγκριμένα, η αύξηση του βάρους των ψαριών αξιολογήθηκε με τον υπολογισμό του απόλυτου ρυθμού αύξησης (Absolute Growth Rate, AGR) (g d<sup>-1</sup>), δηλαδή τη διαφορά μεταξύ αρχικού και τελικού βάρους δια το χρόνο μεταξύ δειγματοληψιών ως:

$$AGR = (MBW_2 - MBW_1)/(t_2 - t_1)$$

όπου  $t_1$  και  $t_2$  είναι ο χρόνος (μέρες) στην αρχή και το τέλος του εκάστοτε μήνα από την έναρξη του πειράματος, και  $MBW_1$ ,  $MBW_2$  τα αντίστοιχα μέσα βάρη (σε επίπεδο δεξαμενής) των ψαριών. Επίσης, υπολογίστηκε ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής (Food Conversion Ratio, FCR) που εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια, ως ο λόγος της τροφής που καταναλώθηκε (*FI*): προς την αύξηση του ολικού βάρους:

$$FCR = FI/(MBW_2 - MBW_1)$$

Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκαν οι ατομικές μετρήσεις βάρους (*BW*), ολικού μήκους (*TL*), βάρους του ήπατος (*LW*) και βάρους της καρδιάς (*HW*) για τον υπολογισμό σωματομετρικών δεικτών. Ειδικότερα, εκτιμήθηκαν ο δείκτης ευρωστίας (condition factor, K) που περιγράφει την φυσική κατάσταση των ψαριών (Le Cren, 1951) καθώς και ο ηπατοσωματικός (Hepatosomatic Index, HSI) και ο καρδιοσωματικός (Cardiosomatic Index, CSI) δείκτης που εκφράζουν την αναλογία βάρους αυτών των οργάνων ως προς το συνολικό βάρος των ψαριών ως:

$$HSI = 100 \, LW/BW$$

 $K = BW/TL^3$ 

CSI = 100 HW/BW

# 2.2.5 Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις

Για την αξιολόγηση των αιματολογικών παραμέτρων, μετρήθηκε ο αιματοκρίτης (Het) και η αιμοσφαιρίνη (Hb). Ο προσδιορισμός του αιματοκρίτη έγινε με τη χρήση τριχοειδών σωληναρίων σε μικροφυγόκεντρο, ενώ της αιμοσφαιρίνης με τη χρήση εμπορικού αντιδραστηρίου (Spinreact) σε φασματοφωτόμετρο. Επίσης, καταγράφηκε το pH αίματος με πεχάμετρο (CRISON, μοντέλο GLP21).

Όσον αφορά τις βιοχημικές παραμέτρους που μετρήθηκαν στο πλάσμα του αίματος, οι ολικές συγκεντρώσεις γλυκόζης, τριγλυκεριδίων, πρωτεϊνών, γαλακτικού οξέος και χοληστερόλης υπολογίστηκαν επίσης με φασματοφωτομετρικές μεθόδους χρησιμοποιώντας εμπορικά αντιδραστήρια (BIOSIS και Spinreact). Επιπλέον, η ενζυματική δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) μετρήθηκε στο ήπαρ με αντιδραστήρια της εταιρείας Cayman Chemical. Τέλος, η συγκέντρωση της κορτιζόλης προσδιορίστηκε με ανοσολογική μέθοδο (ELISA) μετά από κατασκευή πρότυπης καμπύλης και επιλογή κατάλληλων αραιώσεων για τα δείγματα. Για το λαβράκι χρησιμοποιήθηκε εμπορική συσκευασία της εταιρείας DRG (DRG International), η οποία έχει αξιολογηθεί για το είδος σε προηγούμενη μελέτη (Samaras et al., 2016a), ενώ για τον κρανιό χρησιμοποιήθηκε εμπορική συσκευασία με μεγαλύτερη ευαισθησία σε χαμηλές συγκεντρώσεις (ELISA kit, Neogen Life Sciences), που είναι καταλληλότερο για τον κρανιό μιας και το είδος τυπικά παρουσιάζει πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις κορτιζόλης στο αίμα (Fanouraki et al., 2011, Samaras et al., 2016b).

Τέλος, για τις αναλύσεις σωματικής σύστασης, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Dumas για τον προσδιορισμό της συνολικής πρωτεΐνης, βάσει της οποίας τα δείγματα αποτεφρώθηκαν στους 800 °C ώστε να μετατραπούν όλες οι μορφές αζώτου σε οξείδια του αζώτου και στη συνέχεια σε αέριο άζωτο (N<sub>2</sub>). Όσον αφορά τα ολικά λίπη, προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Folch et al. (1957), ενώ για το ποσοστό υγρασίας τα δείγματα ζυγίστηκαν, αποξηράνθηκαν στους 90 °C, και στη συνέχεια ξαναζυγίστηκαν για να υπολογιστεί η περιεκτικότητά τους σε νερό. Τέλος, η περιεκτικότητα σε τέφρα προσδιορίστηκε με καύση των δειγμάτων σε κλίβανο για επτά ώρες στους 600 °C.

## 2.2.6 Μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού

Ο μεταβολικός ρυθμός προσδιορίστηκε έμμεσα με μέτρηση της κατανάλωσης οξυγόνου σε αναπνευσιόμετρο (respirometer). Συγκεκριμένα, ο τυπικός (SMR) και μέγιστος (MMR) μεταβολικός ρυθμός προσδιορίστηκαν σε κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη και το απόλυτο αερόβιο δυναμικό υπολογίστηκε ως η διαφορά μεταξύ SMR και MMR. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ένα ολοκληρωμένο σύστημα της εταιρείας Loligo Systems, το οποίο παραγωρήθηκε από το Εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων (Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης), που περιλάμβανε αναπνευσιόμετρο διαλείπουσας ροής τεσσάρων μεμονωμένων μεταβολικών θαλάμων χωρητικότητας 2 L και το λογισμικό AutoResp (έκδοση 2.2.1). Κάθε μεταβολικός θάλαμος ήταν εξοπλισμένος με αισθητήρα οξυγόνου, ο οποίος βαθμονομήθηκε (βαθμονόμηση δύο σημείων χρησιμοποιώντας διάλυμα Na2SO3 και δείγμα κορεσμένου σε οξυγόνο νερού για τα σημεία 0 και 100% αντίστοιγα) πριν από τις μετρήσεις. Τα δεδομένα του αισθητήρα προωθούνταν στο όργανο μέτρησης (Witrox 4) κατά τη διάρκεια των καταγραφών και στη συνέχεια σε συνδεδεμένο υπολογιστή για επεξεργασία με το λογισμικό AutoResp. Μεταξύ καταγραφών υπήρχε ανταλλαγή νερού μεταξύ των θαλάμων και μιας δεξαμενής ελέγχου συνδεδεμένης με το αντίστοιχο RAS. Αυτό διασφάλιζε ανανέωση του νερού στους θαλάμους μεταξύ καταγραφών και σταθερότητα θερμοκρασιών κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων. Η διαγραμματική απεικόνιση των στοιχείων του αναπνευσιόμετρου και της λειτουργίας του δίνεται στην Εικόνα 2-4.



Εικόνα 2-4 Διαγραμματική απεικόνιση των στοιχείων και της λειτουργίας του αναπνευσιόμετρου που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού.

Figure 2-4 Schematic representation of the components and the operation of the respirometer design that was used for the determination of the metabolic rate.

Οι δύο μεταβολικοί ρυθμοί προσδιορίστηκαν σύμφωνα με καθιερωμένα πρωτόκολλα (Chabot et al., 2016, Killen et al., 2016, Norin & Clark, 2016). Εν συντομία, τα ψάρια τοποθετούνταν αρχικά σε ξεχωριστή κυκλική δεξαμενή (80 L), όπου και εφαρμόζονταν ένα πρωτόκολλο εξάντλησης. Το πρωτόκολλο περιλάμβανε κυνήγι των ψαριών με απόχη μέχρι εξάντλησής τους, κάτι το οποίο διαρκούσε μεταξύ 2 - 5 λεπτών. Στη συνέχεια, τα ψάρια τοποθετούνταν γρήγορα (εντός 30 δευτερολέπτων) στους μεταβολικούς θαλάμους και γινόταν καταγραφή του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου για τα πρώτα τρία λεπτά, θεωρώντας ότι αντιπροσωπεύει τον MMR. Στη συνέχεια, τα ψάρια αφήνονταν στο αναπνευσιόμετρο για 24 ώρες με μετρήσεις κατανάλωσης οξυγόνου να λαμβάνονται σε κύκλους των 10 λεπτών. Οι κύκλοι αποτελούνταν από περίοδο έκπλυσης (flush) έξι λεπτών ακολουθούμενη από ένα λεπτό αναμονής (wait) και τρία λεπτά καταγραφών (measure), κάτι που διασφάλιζε την πλήρη ανανέωση του νερού μέσα στους θαλάμους και σταθεροποίηση των επιπέδων οξυγόνου πριν από κάθε μέτρηση. Καταγραφές με συντελεστή προσδιορισμού (r<sup>2</sup>) μικρότερο από 0,95 απορρίφθηκαν από την ανάλυση και οι υπόλοιπες χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του SMR χρησιμοποιώντας τη

μέθοδο p-ποσοστημορίου 0,2 όπως περιγράφεται από τους Chabot et al. (2016). Ο κορεσμός οξυγόνου εντός των θαλάμων διατηρήθηκε σε κάθε περίπτωση άνω του 80%, ενώ η καταλληλότητα του πρωτοκόλλου εξάντλησης και η διάρκεια των κύκλων μετρήσεων ελέγχθηκαν με προκαταρκτικές δοκιμές πριν τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τέλος, για τον υπολογισμό της κατανάλωσης οξυγόνου υποβάθρου (background respiration) σε κάθε θάλαμο λήφθηκαν καταγραφές χωρίς ψάρια διάρκειας 20 λεπτών πριν και μετά τις μετρήσεις και ο μέσος όρος τους αφαιρέθηκε από τις υπόλοιπες καταγραφές. Επιπλέον, τα ψάρια δεν ταΐστηκαν για 48 ώρες πριν τη μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού, ενώ για την ελαχιστοποίηση των εξωτερικών ερεθισμάτων τα ψάρια απομονώθηκαν οπτικά από το περιβάλλον τους με χρήση ενός μαύρου παραπετάσματος (Εικόνα 2-5).



Εικόνα 2-5 Φωτογραφίες ψαριών στους μεταβολικούς θαλάμους πριν και μετά την τοποθέτηση μαύρου παραπετάσματος για την οπτική απομόνωση τους από τον περιβάλλοντα χώρο.

Figure 2-5 Photos of fish in the metabolic chambers before and after the placement of a black curtain aimed to visually isolate the fish from the surrounding environment.

# 2.2.7 Γονιδιακή έκφραση

Η έκφραση των γονιδίων για τον υποδοχέα γλυκοκορτικοστεροειδών (GR) και τις πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος HSP70 και HSP90 μελετήθηκε ποσοτικά μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (real-time qPCR) σε δείγματα ήπατος και σπλήνα. Ο κύριος στόχος αυτής της ανάλυσης ήταν ο εντοπισμός πιθανών μακροπρόθεσμων επιδράσεων των διαφορετικών θερμοκρασιών στην έκφραση αυτών γονιδίων. Για το λόγο αυτό, και εξετάζοντας τον βέλτιστο συμβιβασμό μεταξύ απόκτησης πληροφοριών και όγκου δειγμάτων, αναλύθηκαν δείγματα των δύο ιστών από πέντε άτομα ανά θερμοκρασιακή συνθήκη στο τέλος των πειραμάτων, αφού είχε ολοκληρωθεί πλήρως ο εγκλιματισμός τους. Η έκφραση των τριών γονιδίων στόχων (GR, HSP70, HSP90) υπολογίστηκε συγκριτικά με εκείνη ενός γονιδίου αναφοράς. Για το γονίδιο αναφοράς, αξιολογήθηκαν τρία πιθανά γονίδια, συγκεκριμένα η βακτίνη, το ριβοσωμικό RNA S18 και το eEEF1-α (Eukaryotic Translation Elongation Factor 1 Alpha), και η β-ακτίνη επιλέχθηκε ως το καταλληλότερο καθώς βάσει ανάλυσης genorm (Vandesompele et al., 2002) παρουσίασε την πιο σταθερή έκφραση μεταξύ των δειγμάτων.

Η απομόνωση του RNA έγινε σε δείγματα ιστών ήπατος και σπλήνας με το κιτ NucleoSpin RNA plus (MACHEREY-NAGEL). Μια μικρή ποσότητα ιστών (30 mg) ομογενοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη συσκευή TissueRuptor (Qiagen) για 20 δευτερόλεπτα σε ρυθμιστικό διάλυμα lysis και στη συνέχεια το RNA απομονώθηκε και καθαρίστηκε βάσει των οδηγιών του κατασκευαστή. Η απόδοση και η καθαρότητα του RNA προσδιορίστηκε με απορρόφηση στα 260 και 280 nm χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο NANODROP ND-1000 (Peqlab), ενώ η ακεραιότητά του αξιολογήθηκε με ηλεκτροφόρηση σε gel αγαρόζης (1%). Στη συνέχεια, κατασκευάστηκαν οι βιβλιοθήκες cDNA με αντίστροφη μεταγραφή χρησιμοποιώντας το κιτ PrimeScript 1st strand cDNA (TaKaRa), οι οποίες αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι περαιτέρω ανάλυση.

Η qPCR ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας έναν θερμοκυκλοποιητή qPCR (CFX connect real-time, Bio-rad) και το αντιδραστήριο KAPA SYBR FAST Universal (KAPA Biosystems) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα στάδια qPCR περιλάμβαναν αρχική μετουσίωση στους 95 °C για 3 λεπτά ακολουθούμενη από 35 κύκλους 15 δευτερολέπτων στους 95 °C, 30 δευτερολέπτων στους 60 °C, και δύο δευτερολέπτων στους 72 °C. Στη συνέχεια κατασκευάστηκε μια τυπική καμπύλη σειριακών αραιώσεων (1:5, 1:25, 1:125, 1:625) από συγκεντρωτικά δείγματα (pooled samples) cDNA για κάθε γονίδιο. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για τα γονίδια στόχους έχουν σχεδιαστεί από τη Δρ Τσαλαφούτα στα πλαίσια προηγούμενων μελετών του εργαστηρίου φυσιολογίας ιχθύων. Οι αλληλουχίες των εκκινητών για τα δυο είδη παρατίθενται στον Πίνακα 2-1.

Πίνακας 2-1 Αλληλουχίες των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση qPCR. Table 2-1 Primer sequences used for the qPCR analysis.

Όνομα εκκινητή	Αλληλουχία (5'→3')					
	Λαβράκι	Κρανιός				
<i>GR</i> _FWD	GCTACGACAGCACCCTGCC	GAGATTTGGCAAGACCTTGACC				
GR_REV	CATGAGGAAGAGCCAGGAGCACTG	ACCACACCAGGCGTACTGA				
HSP70_FWD	TCGACGTGTCCATCCTGACCA	GATGAAGGAGATCGCCGAAGCC				
HSP70_REV	CCACAAAGTGGTTCACCATGCGG	GGCCTGTCGCTGGGAGTC				
HSP90_FWD	CCTTTGCCTTCCAGGCAGAGATC	GCCTCTGATGCTTTGGAC				
HSP90_REV	GGCATTGGAGATCAAACTCCCTGAGG	GCTTTGTTGGGGGATGATGT				

### 2.2.8 Οξεία θερμική καταπόνηση

Για την περαιτέρω αξιολόγηση της θερμικής απόκρισης των ψαριών κάτω από υψηλές θερμοκρασίες πραγματοποιήθηκε στο τέλος του πειράματος δοκιμασία στην οποία τα ψάρια υποβλήθηκαν σε οξεία θερμική καταπόνηση. Σε αυτή τη δοκιμασία προσδιορίστηκε η Μέγιστη Κρίσιμη Θερμοκρασία CT<sub>max</sub> για κάθε μια από τις πειραματικές συνθήκες και καταγράφηκε ο χρόνος αντίστασης, δηλαδή ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσουν τα ψάρια στη θερμοκρασία CT<sub>max</sub>. Επιπλέον, υπολογίστηκε ένας δείκτης θερμικού εγκλιματισμού για την αξιολόγηση της επίδρασης της θερμοκρασίας εγκλιματισμού στην CT<sub>max</sub>, συγκεκριμένα ο λόγος απόκρισης εγκλιματισμού ARR (Acclimation Response Ratio) Για τον προσδιορισμό της CT<sub>max</sub>, χρησιμοποιήθηκαν εδραιωμένες αρχές (Bennett & Beitinger, 1997, Ern et al., 2016, Kır et al., 2017, Pörtner et al., 2017), εφαρμόζοντας μια τροποποιημένη έκδοση του πρωτοκόλλου που περιγράφεται στους Dülger et al. (2012). Συγκεκριμένα, τοποθετήθηκαν μικρές ομάδες ατόμων (πέντε σε κάθε προσδιορισμό) σε μια μικρή δεξαμενή 80 L, η οποία ήταν γεμάτη με νερό της θερμοκρασίας εγκλιματισμού τους και στην οποία παρέχονταν μέτριος αερισμός για να διασφαλιστεί η επαρκής κυκλοφορία και οξυγόνωση του νερού. Στη συνέχεια, προκλήθηκε σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 0,5 °C min<sup>-1</sup> και καταγράφηκε ο χρόνος και η θερμοκρασία στην οποία τα ψάρια έχασαν τον ραχιαίο-κοιλιακό προσανατολισμό τους. Αυτό το κρίσιμο σημείο είναι επίσης γνωστό ως το σημείο απώλειας ισορροπίας (Loss of Equilibrium, LoE) (Moyano et al., 2017) και σηματοδοτεί την ανικανότητα πλέον των ψαριών να διαφύγουν,

μέσω κολύμβησης, των συνθηκών που θα οδηγήσουν στο θάνατό τους. Μετά από κάθε καταγραφή απώλειας ισορροπίας, τα ψάρια μεταφερόταν ξανά στην πειραματική τους δεξαμενή για ανάρρωση. Η θερμοκρασία CT<sub>max</sub> και ο χρόνος αντίστασης υπολογίστηκαν, αντίστοιχα, ως η μέση θερμοκρασία και ο χρόνος όπου τα ψάρια έφτασαν το σημείο απώλειας της ισορροπίας. Τέλος, ο δείκτης ARR υπολογίστηκε διαιρώντας τη διαφορά στην ανοχή (CT<sub>max</sub>) μεταξύ των θερμοκρασιών εγκλιματισμού με τη διαφορά στη θερμοκρασία εγκλιματισμού σύμφωνα με τον Claussen (1977).

$$ARR = \frac{\Delta CT_{max}}{\Delta T_{\varepsilon\gamma\kappa\lambda\iota\mu\alpha\tau\iota\sigma\mu\circ\acute{\nu}}} = \frac{CT_{max2} - CT_{max1}}{T_2 - T_1}$$

όπου και  $T_1$ ,  $T_2$  είναι δύο θερμοκρασίες εγκλιματισμού και  $CT_{max1}$ ,  $CT_{max2}$  οι μέγιστες κρίσιμες θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται σε αυτές.

# 2.2.9 Χρόνος γαστρικής κένωσης

Προκειμένου να εκτιμηθούν πιθανές διαφορές στην ταχύτητα πέψης μεταξύ των διαφορετικών θερμοκρασιών, πραγματοποιήθηκε επίσης εκτίμηση του χρόνου γαστρικής κένωσης (Gastric Emptying Time, GET). Η εκτίμηση έγινε μια εβδομάδα μετά το πέρας της κανονικής διάρκειας του πειράματος για να διασφαλιστεί ότι τα ψάρια είγαν επανέλθει σε κανονικές σνθήκες μετά την τελευταία δειγματοληψία. Τα ψάρια στερήθηκαν τροφής για 48 ώρες πριν την έναρξη της δοκιμασίας. Αυτό το χρονικό διάστημα επιλέχθηκε για να διασφαλιστεί οτι στομάχι τους ήταν τελείως άδειο, καθώς προηγούμενες αδημοσίευτες μελέτες του εργαστηρίου έχουν ανιχνεύσει υπολοίματα τροφής ακόμα και 30 ώρες μετά την κατανάλωσή της. Κατά την έναρξη της δοκιμασίας τα ψάρια ταΐστηκαν με το χέρι μέχρι το σημείο του οπτικού κορεσμού σε ένα μεγάλο γεύμα διάρκειας 20 λεπτών. Η τροφή που δεν καταναλώθηκε αφαιρέθηκε αμέσως και καταμετρήθηκε ενώ τα ψάρια χωρίστηκαν σε 10 ομάδες των τεσσάρων ατόμων τα οποία τοποθετήθηκαν σε χωριστά κλουβιά εντός των δεξαμενών. Τα ψάρια από κάθε τέτοια ομάδα συλλέγονταν σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, θανατώνονταν, και το στομαχικό τους περιεχόμενο αφαιρούταν προσεκτικά και ζυγιζόταν με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων. Τέλος, το υγρό στομαχικό περιεχόμενο τοποθετήθηκε σε κλίβανο στους 90 °C για απομάκρυνση της υγρασίας και υπολογισμό του ξηρού βάρους. Το βάρος του κάθε ψαριού καταγράφηκε επίσης έτσι ώστε το ξηρό στομαχικό περιεχόμενο να μπορεί να εκφραστεί ως ποσοστό του ολικού βάρους. Τα χρονικά σημεία στα οποία γίναν οι μετρήσεις ήταν οι 0, 2, 4, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30 ώρες στο πείραμα του λαβρακιού και οι 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 32 ώρες στο πείραμα του κρανιού.

## 2.2.10 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο λογισμικό SPSS, έκδοση 22. Τα αποτελέσματα δίνονται ως μέσες τιμές ακολουθούμενες από την τυπική απόκλιση. Οι επιδράσεις της θερμοκρασίας και της πειραματικής διάρκειας στην αύξηση και τις φυσιολογικές μεταβλητές αξιολογήθηκαν μέσω ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας P < 0.05. Για να αξιολογηθεί η ταυτόχρονη επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου έκθεσης στους αυξητικούς δείκτες, πραγματοποιήθηκε αμφίδρομη ανάλυση διακύμανσης (two-way ANOVA), ενώ εφαρμόστηκε ένας ιεραρχικός σχεδιασμός (nested two-way ANOVA) για τις αιματολογικές, μεταβολικές, ορμονικές και ενζυματικές μεταβλητές, ώστε να ληφθούν υπόψη πιθανές διαφορές μεταξύ δεξαμενών (tank effects). Σε περιπτώσεις που εντοπίστηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων της θερμοκρασίας και του χρόνου, τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης αναφέρονται αλλα δεν επιχειρείται ερμηνεία των επιδράσεων των κυρίων παραγόντων. Αντ'αυτού γίνεται αναφορά στις διαφορές μεταξύ θερμοκρασιακών ομάδων για κάθε χρονική στιγμή μεσω τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Tukey (Tukey's HSD). Για τις αναλύσεις γονιδιακής έκφρασης, μεταβολικού ρυθμού, CT<sub>max</sub> και σωματικής σύστασης, πραγματοποιήθηκε μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA), ενώ στα δεδομένα του χρόνου γαστρικής κένωσης πραγματοποιήθηκε ανάλυση παλινδρόμησης. Τα δεδομένα ελέγχθηκαν ως προς τις προϋποθέσεις τους για κάθε ανάλυση χρησιμοποιώντας το τεστ Kolmogorov-Smirnov για την κανονικότητα και το τεστ Levene για την ομοιογένεια της διακύμανσης. Σε περιπτώσεις παραβίασης αυτών των κριτηρίων πραγματοποιήθηκε το μη παραμετρικό τεστ Kruskal-Wallis. Στις περιπτώσεις που παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, πραγματοποιήθηκαν επιπλέον τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Tukey (Tukey's HSD) για τον προσδιορισμό των διαφορών μεταξύ των ομάδων.

# 2.3 Αποτελέσματα πειράματος λαβρακιού

### 2.3.1 Παράμετροι αύξησης

Τόσο η θερμοκρασία όσο και ο παράγοντας του χρόνου είχαν σημαντική επίδραση στις παραμέτρους εκτίμησης του αυξητικού ρυθμού του λαβρακιού. Συνολικά, οι συνθήκες Λ1 και Λ2 εμφάνισαν παρόμοιες τάσεις, ενώ η Λ3 ήταν σημαντικά διαφορετική καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Επιπλέον, το λαβράκι εμφάνισε σημάδια αργού εγκλιματισμού στις πειραματικές θερμοκρασίες με τους περισσότερους δείκτες να παρουσιάζουν χαμηλές τιμές κατά τον πρώτο μήνα.

#### 2.3.1.1 Κατανάλωση τροφής

Όπως φάνηκε και από τις μεταβολές στην ημερήσια πρόσληψη τροφής κατά τη διάρκεια του πειράματος (Εικόνα 2-6), υπήρξε μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της θερμοκρασίας και του χρόνου όσον αφορά την όρεξη των ψαριών (θερμοκρασία:  $F_{2,18} = 83,1, P < 0,001,$  χρόνος:  $F_{2,18} = 21,4, P < 0,001,$  αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 13,8, P < 0,001$ ).



Εικόνα 2-6 Ημερήσια πρόσληψη τροφής (% BW  $d^{-1}$ ) λαβρακιού υπό τρείς θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Figure 2-6 Daily feed intake (% BW  $d^{-1}$ ) of E. sea bass under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Means and standard deviation.

Κατά τις πρώτες εβδομάδες, η πρόσληψη τροφής παρέμεινε χαμηλή σε περίπου 0,5% BW d<sup>-1</sup> για όλες τις συνθήκες και προοδευτικά αυξήθηκε ξεπερνώντας το 1% BW d<sup>-1</sup> στο τέλος του πρώτου μήνα. Μάλιστα, κατά τους επόμενους μήνες αυξήθηκε περαιτέρω για τις Λ1 και Λ2 και διατηρήθηκε σχετικά σταθερή, ενώ παρέμεινε χαμηλότερα για την Λ3 και με μεγαλύτερες διακυμάνσεις.

#### 2.3.1.2 Αύξηση βάρους

Σημαντική ήταν η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου έκθεσης, αλλά και της αλληλεπίδρασής τους στον απόλυτο ρυθμό αύξησης (AGR) των ψαριών (θερμοκρασία:  $F_{2,18}$  = 116,9, P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,18} = 148,1$ , P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 7,7$ , P = 0,001) και κατ' επέκταση στη μεταβολή του μεγέθους τους. Μάλιστα, σε συμφωνία με τη χαμηλή πρόσληψη τροφής τις πρώτες εβδομάδες του πειράματος, αρχικά η αύξηση του βάρους των ψαριών ήταν αμελητέα, με τις Λ1 και Λ2 να σημειώνουν τον πρώτο μήνα μέσα βάρη 137,3  $\pm$  2,5 και 139,7  $\pm$ 3,4g, αντίστοιχα, ενώ απώλεια βάρους παρατηρήθηκε στην Λ3 με μέσο βάρος των ψαριών τα 116,8 ± 1,9g (Εικόνα 2-7, α, Εικόνα 2-8). Κατά τη διάρκεια του δεύτερου μήνα η αύξηση του βάρους των ψαριών ήταν αισθητή στις συνθήκες Λ1 και Λ2 με τα ψάρια να φτάνουν βάρη 173,7  $\pm$  5,4 και 179,7  $\pm$  4,3 g, αντίστοιχα, ενώ δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο, η αύξηση του βάρους των ψαριών της Λ3 παρέμεινε αμελητέα. Περαιτέρω αύξηση του μεγέθους των ψαριών στις Λ1 και Λ2 τον τρίτο μήνα οδήγησε σε τελικά βάρη 208,3  $\pm$  9,8 και 217,5  $\pm$  6,3 g, αντίστοιχα, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Όσον αφορά την Δ3, ο ρυθμός αύξησης του βάρους ήταν αρνητικός τον πρώτο μήνα, και θετικός, αλλα σημαντικά διαφορετικός από τις Λ1, Λ2 τον δεύτερο και τρίτο μήνα. Οι ίδιες τάσεις παρατηρήθηκαν επίσης και για τις μεταβολές του ολικού μήκους (Εικόνα 2-7, β).



Εικόνα 2-7 Εξέλιζη του βάρους (α) και του ολικού μήκους (β) για τις τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Figure 2-7 Evolution of weight (a) and total length ( $\beta$ ) under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Means and standard deviation.



Εικόνα 2-8 Απόλυτος ρυθμός αύζησης του βάρους (g d<sup>-1</sup>) του λαβρακιού υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (AI = 24 °C, A2 = 28 °C, A3 = 33 °C). Τα ιστογράμματα αναπαριστούν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς

Figure 2-8 Absolute growth rate  $(g d^{-1})$  of E. sea bass under three temperature treatments  $(\Lambda 1 = 24 \circ C, \Lambda 2 = 28 \circ C, \Lambda 3 = 33 \circ C)$ . Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

Αναφορικά με τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR), βρέθηκε σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων της θερμοκρασίας και του χρόνου ( $F_{4,18} = 13,6, P < 0,001,$  θερμοκρασία:  $F_{2,18} = 2,1, P = 0,155,$  χρόνος:  $F_{2,18} = 1,8 P = 0,194$ ). Στην πρώτη δειγματοληψία,

οι χαμηλοί ρυθμοί αύξησης στις Λ1 και Λ2, οδήγησαν σε υψηλές τιμές του FCR, ενώ αρνητικές τιμές του συντελεστή καταγράφηκαν για την Λ3 λόγω απώλειας του βάρους των ψαριών (Εικόνα 2-9). Ωστόσο, υπό τους τυπικούς ρυθμούς αύξησης των Λ1 και Λ2 τους επόμενους μήνες, οι τιμές του FCR μειώθηκαν σημαντικά και παρέμειναν συγκρίσιμες, ενώ η Λ3 εμφάνισε σημαντικά υψηλότερες τιμές αν και με τάση μείωσης.



Εικόνα 2-9 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για το λαβράκι υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 2 = 28 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 3 = 33 \,^{\circ}$ C). Τα ιστογράμματα αναπαριστούν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς.

Figure 2-9 Feed Conversion Ratio for E. sea bass under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

#### 2.3.1.3 Σωματομετρικοί δείκτες

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) επηρεάστηκε σημαντικά από το χρόνο και την αλληλεπίδραση θερμοκρασίας και χρόνου (χρόνος:  $F_{2,108} = 41,4$ , P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 16,9$ , P < 0,001), καθώς οριακά σημαντική ήταν και η επίδραση της θερμοκρασίας ( $F_{2,108} = 3,1$ , P = 0,048). Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές του HSI μεταξύ των Λ1 και Λ2 καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, αλλά διέφεραν σημαντικά από την Λ3. Συγκεκριμένα ο δείκτης έδειξε μια προοδευτική μείωση στην Λ3 φτάνοντας τιμές κοντά στη μονάδα στον τελευταίο μήνα (Εικόνα 2-10, α).

Ο καρδιοσωματικός δείκτης (CSI) επηρεάστηκε επίσης από τη θερμοκρασία ( $F_{2,108} = 5,9$ , P = 0,004, χρόνος:  $F_{2,108} = 1,1$ , P = 0,367, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 0,9$ , P = 0,418). Ειδικότερα, ο

δείκτης παρέμεινε συντηρητικά κοντά στο 1,3% για τις Λ1 και Λ2, ενώ αντίθετα, τα ψάρια στην Λ3 ανέπτυξαν μεγαλοκαρδία, με τον CSI να είναι σημαντικά υψηλότερος σε όλες τις δειγματοληψίες με τιμή περίπου 1,7% (Εικόνα 2-10, β). Τέλος, ο συντελεστής ευρωστίας (K) επηρεάστηκε σημαντικά από την αλληλεπίδραση θερμοκρασίας και χρόνου (θερμοκρασία:  $F_{2,18}$ = 126,7, P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,18} = 65,1$ , P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 5,9$ , P = 0,003), εμφανίζοντας μη σημαντικές διαφορές μεταξύ των Λ1 και Λ2 σε όλες τις δειγματοληψίες, αλλά με σταθερά χαμηλότερες τιμές στην Λ3 (Εικόνα 2-10, γ).



Εικόνα 2-10 Σωματομετρικοί δείκτες στο λαβράκι υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 2 = 28 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 3 = 33 \,^{\circ}$ C).a) Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), β) Καρδιοσωματικός δείκτης (CSI), (γ) Δείκτης ευρωστίας (K). Τα ιστογράμματα αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς.

Figure 2-10 Somatometric indices for E. sea bass under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \, {}^{\circ}C$ ,  $\Lambda 2 = 28 \, {}^{\circ}C$ ,  $\Lambda 3 = 33 \, {}^{\circ}C$ ). a) Hepatosomatic index (HSI),  $\beta$ ) Cardiosomatic index (CSI),  $\gamma$ ) Condition factor (K). Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

#### 2.3.1.4 Θνησιμότητα

Η επιβίωση των ψαριών επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, για τις συνθήκες της χαμηλότερης και ενδιάμεσης θερμοκρασίας δεν καταγράφηκαν θνησιμότητες καθ' όλη τη διάρκεια της δοκιμής, εκτός από λίγα μεμονωμένα περιστατικά τις πρώτες εβδομάδες του πειράματος. Ωστόσο, σημαντικές θνησιμότητες καταγράφηκαν στην υψηλότερη θερμοκρασία, με αποτέλεσμα περίπου τα μισά ψάρια του αρχικού πληθυσμού να χάνονται μέχρι το τέλος του πειράματος. Ειδικότερα, το ποσοστό θνησιμότητας για την Λ3 κυμάνθηκε μεταξύ 0,4 και 1,7% d<sup>-1</sup> κατά τη διάρκεια του πειράματος. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι τα περισσότερα από τα ψάρια τότι τα όρια επιβίωσης πλησίον του ανώτερου άκρου θερμικής ανοχής για το λαβράκι είναι ιδιαίτερα στενά.

# 2.3.2 Χρόνος Γαστρικής Κένωσης

Η ταχύτητα πέψης της τροφής συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία, όπως υποδεικνύεται από τον χρόνο γαστρικής κένωσης (Εικόνα 2-11, Πίνακας 2-2). Η ανάλυση παλινδρόμησης έδειξε ότι η καλύτερη προσαρμογή των δεδομένων έγινε με το εκθετικό μοντέλο  $y = ae^{bx}$ , όπου y το στομαχικό περιεχόμενο ως ποσοστό του ολικού βάρους του ψαριού και x ο χρόνος σε ώρες. Συγκεκριμένα, το εκθετικό μοντέλο για την Λ1 υπολογίστηκε σε  $y = 1,98e^{-0,082x}$  και σε  $y = 1,96e^{-0,133x}$  για την Λ2, ενώ οι συντελεστές προσδιορισμού r<sup>2</sup> ήταν αντίστοιχα 0,96 και 0,91. Η γαστρική κένωση ήταν αξιοσημείωτα ταχύτερη στους 28 °C σε σύγκριση με τους 24 °C. Ενώ και για τις δύο συνθήκες η αρχική πρόσληψη τροφής ήταν παρόμοια σε περίπου 1,9% του βάρους των ψαριών, το περιεχόμενο του στομάχου μειώθηκε γρήγορα στην Λ2 πέφτοντας στο μισό (GET<sub>50%</sub>) την πέμπτη ώρα μετά το τάισμα, ενώ για την Λ1 αυτό χρειάστηκε πάνω από εννιά ώρες. Κατά αναλογία, η κένωση του στομαχικού περιεχομένου κατά 75% (GET<sub>75%</sub>) έγινε στις 10 και 18 ώρες, αντίστοιχα. Επιπλέον, μέχρι το τέλος της δοκιμασίας στις 30 ώρες η γαστρική κένωση στην Λ2 είχε ολοκληρωθεί, ενώ μικρές ποσότητες τροφής εξακολουθούσαν να καταγράφονται στα στομάχια των ψαριών της συνθήκης Λ1.

Πίνακας 2-2 Χρόνος γαστρικής κένωσης (GET) λαβρακιού υπό δύο θερμοκρασιακές συνθήκες (Λ1 = 24 °C, Λ2 = 28 °C) αναφορικά με το ποσοστό (50, 75, 100%) της αρχικής τροφής που έχει απομακρυνθεί από το στομάχι.

Table 2-2 Gastric Evacuation Time (GET) of E. sea bass under two temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ) referring to the percentage (50, 75, 100%) of initial feed that has been removed from the stomach.

Πειραματική συνθήκη	GET <sub>50%</sub> (h) (εκτιμώμενο)	GET <sub>75%</sub> (h) (εκτιμώμενο)	GET <sub>100%</sub> (h) παρατηρούμενο
Λ1	9,2	17,7	>30
Λ2	4,9	10,2	30



Εικόνα 2-11 Στομαχικό περιεχόμενο λαβρακιού για διάρκεια 30 ωρών μετά το τάισμα υπό δύο θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ). Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο μεταζύ ατόμων σε κάθε χρονικό σημείο και οι μπάρες την τυπική απόκλιση (N = 4), ενώ οι γραμμές την προσαρμογή του αντίστοιχου εκθετικού μοντέλου στα δεδομένα.

Figure 2-11 Stomach residue of E. sea bass for 30 hours following feeding, under two temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24 \,^{\circ}C$ ,  $\Lambda 2 = 28 \,^{\circ}C$ ). Points denote mean values among individuals for each time point and vertical lines the standard deviation (N = 4), while the curves indicate the fit of the respective exponential models.

### 2.3.3 Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις

Ο παράγοντας της θερμοκρασίας είχε σημαντική επίδραση στο σύνολο των εξεταζόμενων μεταβλητών στο λαβράκι, ενώ σε πολλές περιπτώσεις εντοπίστηκαν και σημαντικές αλληλεπιδράσεις θερμοκρασίας και χρόνου. Οι σημαντικότερες διαφορές μεταξύ θερμοκρασιακών συνθηκών εντοπίστηκαν μεταξύ της Λ3 και των υπολοίπων. Ωστόσο για κάποιες μεταβλητές υπήρξαν επίσης σημαντικές διαφορές μεταξύ των Λ1 και Λ2. Η σύνοψη των

αποτελεσμάτων από τις αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 2-

3.

Πίνακας 2-3 Αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες στο λαβράκι για τις τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 2 = 28 \,^{\circ}$ C,  $\Lambda 3 = 33 \,^{\circ}$ C) κατά τη διάρκεια του πειράματος. Μέσος όρος και τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταζύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταζύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς.

Table 2-3 Hematological and biochemical indices of E. sea bass for the three temperature treatments during the trial. Means and standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

	1° <sup>ς</sup> μήνας		2 <sup>ος</sup> μήνας		3°ς μήνας				
	Λ1	Λ2	Λ3	Λ1	Λ2	Λ3	Λ1	Λ2	Λ3
Αιματοκρίτης (%)	37,7 ± 3,1 <sup>a,1,2</sup>	40,9 ± 3,4 <sup>ab,1</sup>	43,1 ±2,3 <sup>b,1</sup>	41,7 $\pm 2,5^{a,1}$	36,1 ± 3,1 <sup>b,2</sup>	42,3 $\pm$ 3,6 <sup>a,1</sup>	$34,9 \\ \pm 3,5^2$	37,5 $\pm 3,1^{12}$	37,6 ± 3,5 <sup>2</sup>
Αιμοσφαιρίνη (g dl <sup>-1</sup> )	9,6 ± 1,1 <sup>1</sup>	8,5 ± 0,7 <sup>1,3</sup>	$8,67 \pm 0,9^{1}$	9,9 ± 1,3 <sup>1</sup>	9,9 ± 1,6 <sup>2</sup>	8,8 ± 1,3 <sup>1</sup>	8,1 ± 1,1 <sup>a,2</sup>	7,3 $\pm 1,2^{a,3}$	2,5 $\pm 0,9^{b,2}$
Τριγλυκερίδια (mmol L <sup>-1</sup> )	3,2 ± 1,3 <sup>a,1</sup>	5,6 $\pm 0,8^{b,1}$	2,9 $\pm 0,5^{a,1}$	$8,4 \pm 0,5^{a,2}$	9,2 ± 1,2 <sup>a,1</sup>	3,3 $\pm 0,9^{b,1}$	6,1 ± 1,2 <sup>a,2</sup>	$\begin{array}{l} 4,9\\ \pm \ 0,9^{\mathrm{a},2}\end{array}$	1,4 ± 0,2 <sup>b,2</sup>
Γλυκόζη (mmol L <sup>-1</sup> )	$10,3 \\ \pm 1,8^{1}$	$12,5 \pm 2,3^{1}$	11,4 ± 1,6 <sup>1</sup>	9,8 ±1,7 <sup>a,1</sup>	6,8 ± 2,3 <sup>a,2</sup>	2,9 ± 0,6b <sup>,2</sup>	$5,5 \pm 1,6^2$	6,4 ± 2,1 <sup>2</sup>	7,9 ± 2,1 <sup>3</sup>
Χοληστερόλη (mmol L <sup>-1</sup> )	3,7 $\pm 1,2^{1}$	3,4 ± 1,4 <sup>1</sup>	3,6 ± 1,4	9,7 ± 1,2 <sup>a,2</sup>	7,9 ± 1,9 <sup>b,2</sup>	2,6 ± 0,6 <sup>c</sup>	$4,6 \pm 0,7^{a,1}$	$4,6\\ \pm 0,5^{a,1}$	3,2 ± 0,7 <sup>b</sup>
Ολικές πρωτεΐνες (g dl <sup>-1</sup> )	2,2 ± 0,3 <sup>a,1</sup>	2,9 $\pm 0,4b^{,1}$	2,8 ± 0,6 <sup>b,1</sup>	5,7 $\pm 0,2^{a,2}$	4,1 $\pm 0,7b^{,2}$	1,3 ± 0,6 <sup>c,2</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>a,3</sup>	$\begin{array}{l} 1,3\\ \pm \ 0,2^{a,3} \end{array}$	2,9 $\pm 0,4^{b,1}$
Γαλακτικό οξύ (mmol L <sup>-1</sup> )	2,9 ± 0,7 <sup>a,1</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>b,1</sup>	4,8 ± 1,1 <sup>c,1</sup>	2,5 $\pm 0,4^{1}$	3,1 ± 0,8 <sup>1</sup>	3,3 $\pm 0,9^2$	1,3 ± 0,3 <sup>a,2</sup>	$1,2 \pm 0,3^{a,2}$	6,1 ± 1,2 <sup>b,3</sup>
Κορτιζόλη (ng ml <sup>-1</sup> )	$\begin{array}{l} 440 \\ \pm \ 28^1 \end{array}$	$\begin{array}{l} 476 \\ \pm  51^1 \end{array}$	$421 \pm 73^{1}$	52 ± 18 <sup>a,2</sup>	$\begin{array}{l} 300 \\ \pm  91^{b,2} \end{array}$	222 ± 31 <sup>c,2</sup>	50 ± 21 <sup>a,2</sup>	211 $\pm 31^{b,3}$	262 ± 89 <sup>c,3</sup>
GPx (nmol mg pr <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	4,1 ± 0,7 <sup>a,1</sup>	$4,6 \pm 0,9^{a,1}$	$\begin{array}{l} \textbf{6,5} \\ \pm \ \textbf{0,7}^{\text{b,1}} \end{array}$	$3,2 \pm 0,5^{a,2}$	4,0 $\pm 0,7^{a,12}$	2,3 $\pm 0,7^{b,2}$	$3,5 \pm 0,7^{a,12}$	$3,6\\\pm 0,9^{a,2}$	2,0 ± 0,7 <sup>b,2</sup>

#### 2.3.3.1 Αιματολογικές μεταβλητές

Oi παράγοντες της θερμοκρασίας και του χρόνου επηρέασαν τις αιματολογικές μεταβλητές, ενώ σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ τους ανιχνεύτηκε τόσο για τον αιματοκρίτη (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 3,1, P = 0,042,$ χρόνος:  $F_{2,108} = 4,2, P = 0,017,$ αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 4,3, P = 0,003)$ όσο και για την αιμοσφαιρίνη ( $F_{2,108} = 33,7 P < 0,001,$ χρόνος:  $F_{2,108} = 71,9, P < 0,001,$ αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 14,3, P < 0,001$ ). Τον πρώτο μήνα, ο αιματοκρίτης ήταν υψηλότερος στην Λ3 ( $43 \pm 2\%$ ), και, όπως έδειξε το τεστ Tukey's HSD, στατιστικά διαφορετικός της Λ1 ( $37 \pm 3\%$ ) αλλά όχι της Λ2 ( $41 \pm 3\%$ ) (Πίνακας 2-3). Στη συνέχεια, παρέμεινε σταθερός τον δεύτερο μήνα για την Λ1 και Λ3, αντίστοιχα, ενώ μειώθηκε για την Λ2. Τον τρίτο μήνα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με τα επίπεδα του αιματοκρίτη να κυμαίνονται μεταξύ 35 - 38%. Η αιμοσφαιρίνη συνολικά δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με τα την οποία η Λ3 εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερες τιμές από τις υπόλοιπες.

#### 2.3.3.2 Βιοχημικές μεταβλητές

Η θερμοκρασία και ο χρόνος επηρέασαν σημαντικά τις βιοχημικές μεταβλητές που μετρήθηκαν στο πλάσμα. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν σημαντικές επιδράσεις της θερμοκρασίας, του χρόνου, αλλά και της αλληλεπίδρασης τους για τις συγκεντρώσεις των ολικών πρωτεϊνών ( $F_{2.108} = 31,9, P$ < 0,001, χρόνος:  $F_{2.108} = 198, P < 0,001,$  αλληλεπίδραση:  $F_{4.108} = 212,9, P < 0,001$ ), της γλυκόζης (θερμοκρασία:  $F_{2.108} = 31,9, P < 0,001,$  χρόνος:  $F_{2.108} = 198, P < 0,001,$  αλληλεπίδραση:  $F_{4.108} = 212,9, P < 0,001$ ), των τριγλυκεριδίων ( $F_{2.108} = 200,1, P < 0,001,$  χρόνος:  $F_{2.108} = 140,3, P < 0,001,$ αλληλεπίδραση:  $F_{4.108} = 35,7, P < 0,001$ ) και της χοληστερόλης ( $F_{2.108} = 51,7, P <$ .  $F_{2.108} = 64,6,$ P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4.108} = 29,4, P < 0,001$ ). Όσον αφορά τη συγκέντρωση ολικής πρωτεΐνης, δεν παρατηρήθηκε κάποια ευδιάκριτη τάση. Στην πρώτη δειγματοληψία, οι συνθήκες Λ2 και Λ3 παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις συγκριτικά με την Λ1, που ωστόσο παρέμεινε κάτω από 3 g dl<sup>-1</sup>. Αντίθετα, τον δεύτερο μήνα, η Λ1 παρουσίασε τα υψηλότερα επίπεδα ολικής πρωτεΐνης ( $5,7 \pm 0,2$  g dl<sup>-1</sup>), ακολουθούμενη από την Λ2 με ενδιάμεσα ( $4,1 \pm 0,7$  g dl<sup>-1</sup>) και την Λ3 με τα χαμηλότερα ( $1,3 \pm 0,6$  g dl<sup>-1</sup>). Τον τελευταίο μήνα, οι συνθήκες Λ1 και Λ2 παρέμειναν σε χαμηλά επίπεδα με την Λ3 να παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερες τιμές. Η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων διέφερε μεταξύ της Λ3 και των άλλων συνθηκών. Συγκεκριμένα, ήταν στατιστικά χαμηλότερη κατά τον δεύτερο και τρίτο μήνα φτάνοντας μέχρι και τιμές  $1,4 \pm 0,2 \text{ mmol } \text{L}^{-1}$ . Επιπλέον, για τις Λ1 και Λ2, η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων ήταν στατιστικά χαμηλότερη τον πρώτο μήνα σε σύγκριση με τις επόμενες δειγματοληψίες. Για τις ίδιες συνθήκες, η αντίθετη τάση παρατηρήθηκε για τη γλυκόζη, η οποία παρουσίασε μείωση με τον χρόνο. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών συνθηκών τον πρώτο και τον τρίτο μήνα, ενώ κατά τον δεύτερο, η γλυκόζη στην Λ3 ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τις άλλες δυο. Τέλος, η συγκέντρωση της χοληστερόλης παρουσίασε διαφορές μεταξύ των τριών διαφορές κατά τη δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία.

Τα επίπεδα κορτιζόλης επηρεάστηκαν επίσης από τη θερμοκρασία και τον χρόνο (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 84,4, P < 0,001$ , χρόνος:  $F_{2,108} = 309,3, P < 0,001$ ), καθώς και από την αλληλεπίδρασή τους (F4,108 = 26,7, P < 0,001). Συγκεκριμένα, η κορτιζόλη εμφάνισε αυξημένες τιμές σε όλες τις θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα, ξεπερνώντας τα 400ng ml<sup>-1</sup>. Ωστόσο, για την Λ1 τα επίπεδα κορτιζόλης μειώθηκαν κατά δέκα φορές τον δεύτερο και τρίτο μήνα ( $52 \pm 18$  και  $50 \pm 21$  ng ml<sup>-1</sup> αντίστοιχα) και ήταν σημαντικά χαμηλότερα από τις άλλες δύο συνθήκες. Παρότι η τάση μείωσης ήταν η ίδια για τις Λ2 και Λ3, αυτό έγινε σε μικρότερο βαθμό, με τις συγκεντρώσεις κορτιζόλης να παραμένουν υψηλές (> 200 ng ml<sup>-1</sup>) μέχρι το τέλος του πειράματος. Ομοίως για το γαλακτικό οξύ (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 109,2, P < 0,001,$  χρόνος:  $F_{2,108}$ = 16,5, P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 41,4, P < 0,001$ ), όλες οι συνθήκες εμφάνισαν υψηλές συγκεντρώσεις τον πρώτο μήνα, αλλά μειώθηκαν σημαντικά για τις Λ1 και Λ2 τον τρίτο μήνα (1,2 - 1,3 mmol L<sup>-1</sup>). Αντίθετα, η Λ3 παρουσίασε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα γαλακτικού οξέος τόσο τον πρώτο όσο και τον τρίτο μήνα. Επιπλέον, σε σύγκριση με τις άλλες συνθήκες, η Λ3 χαρακτηρίστηκε από σημαντικά υψηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικών (GPx) τον πρώτο μήνα τα οποία όμως μειώθηκαν δραστικά στις επόμενες δειγματοληψίες.

#### 2.3.3.3 Σωματική σύσταση

Η χημική σύσταση του ολικού σώματος των ψαριών επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία, όπως αντανακλάται από τις αλλαγές στα ποσοστά υγρασίας ( $F_{2,12} = 29,5, P < 0,001$ ), ολικής πρωτεΐνης ( $F_{2,12} = 13,8, P = 0,001$ ) και ολικών λιπών ( $F_{2,12} = 4,3, P = 0,042$ ). Συγκεκριμένα, βρέθηκαν διαφορές μεταξύ της Λ3 και των άλλων δύο πειραματικών θερμοκρασιών. Στην υψηλότερη θερμοκρασία, η περιεκτικότητα σε υγρασία αυξήθηκε σημαντικά, ενώ το αντίθετο συνέβη για τα επίπεδα ολικών πρωτεϊνών και ολικών λιπών, τα οποία μειώθηκαν σημαντικά (Πίνακας 2-4). Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε τέφρα, παρατηρήθηκε μια μικρή αυξητική τάση με τη θερμοκρασία, ωστόσο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική ( $F_{2,12} = 1,3, P = 0,3$ ).

Πίνακας 2-4 Σωματική σύσταση λαβρακιού (υγρασία, ολικές πρωτεΐνες, ολικά λίπη, τέφρα) υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 2 = 28 \text{ °C}$ ,  $\Lambda 3 = 33 \text{ °C}$ ). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση (N = 15 ανά θερμοκρασία). Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών υποδηλώνονται με διαφορετικά γράμματα.

Table 2-4 Proximate body composition of E. sea bass (moisture, total proteins, total lipids, ash) under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24$  °C,  $\Lambda 2 = 28$  °C,  $\Lambda 3 = 33$  °C). Means and standard deviation (N = 15 per temperature). Statistically significant differences between temperatures are indicated by different letters.

	Λ1	Λ2	Λ3
Υγρασία (%)	$64,\!4\pm0,\!7^{\rm a}$	$64,6\pm0,7^{\rm a}$	$67,\!4\pm0,\!7^{\rm b}$
Ολικές πρωτεΐνες (%)	$18,8 \pm 0,9^{a}$	$17,9\pm0,9^{\rm a}$	$15{,}9\pm0{,}8^{\rm b}$
Ολικά λίπη (%)	$13,2 \pm 0,9^{a}$	$13,6 \pm 0,9^{a}$	$11,4 \pm 0,9^{b}$
Τέφρα (%)	$3,8\pm0,9$	4,1 ± 0,6	$4,5 \pm 0,4$

## 2.3.4 Γονιδιακή έκφραση

Η μοριακή ανάλυση αποκάλυψε σημαντικές επιδράσεις της θερμοκρασίας στη σχετική έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος HSP70 και HSP90, αλλά όχι για το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα GR. Συγκεκριμένα, η επίδραση ήταν σημαντική για το HSP70 τόσο στο ήπαρ ( $F_{2,12} = 55,9, P < 0,001$ ) όσο και στον σπλήνα ( $F_{2,12} = 411, P < 0,001$ ), ενώ για το HSP90 μόνο στο ήπαρ ( $F_{2,12} = 68,7, P < 0,001$ ). Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις, η Λ1 παρουσίασε σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με τις άλλες θερμοκρασίακές συνθήκες. Στο ήπαρ, η παρατηρούμενη τάση ήταν παρόμοια τόσο για το HSP70 όσο και για το HSP90, με την έκφρασή τους να ρυθμίζεται προς τα άνω για τις Λ2 και Λ3 σε σχέση με την Λ1 (Εικόνα 2-12). Παρότι η ίδια τάση παρατηρήθηκε και για το HSP90 στον σπλήνα, η συσχέτιση εκεί δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Ωστόσο, η έκφραση του HSP70 στον σπλήνα αυξήθηκε σημαντικά για την Λ2 και ακόμη περισσότερο για την Λ3, με τη σχετική έκφραση να είναι αντίστοιχα πενταπλάσια και δεκαπλάσια της Λ1.



Εικόνα 2-12 Σχετική έκφραση τριών γονιδίων-στόχων (GR, HSP70 και HSP90) για το λαβράκι στις τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες ( $\Lambda 1 = 24^{\circ}$ C,  $\Lambda 2 = 28^{\circ}$ C,  $\Lambda 3 = 33^{\circ}$ C) στο ήπαρ και στον σπλήνα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταζύ των συνθηκών υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ τα σημεία αναπαριστούν ατομικές μετρήσεις (N = 5 ανά θερμοκρασία).

Figure 2-12 Relative expression of three target genes (GR, HSP70 and HSP90) for E. seabass under three temperature treatments ( $\Lambda 1 = 24^{\circ}C$ ,  $\Lambda 2 = 28^{\circ}C$ ,  $\Lambda 3 = 33^{\circ}C$ ) in the liver and the speen. Statistically significant differences between treatments are denoted by different letters, while points indicate individual measurements (N = 5 per temperature).

## 2.3.5 Μεταβολικός ρυθμός

H ανάλυση του μεταβολικού ρυθμού έδειξε ότι ο τυπικός μεταβολικός ρυθμός (SMR) αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας, παρουσιάζοντας διπλασιασμό από 82,7 ± 10,4 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στην Λ1 σε 165,8 ± 21 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στην Λ3 (Εικόνα 2-13). Ωστόσο, παρόμοια τάση δεν παρατηρήθηκε για τον μέγιστο μεταβολικό ρυθμό (MMR). Οι διαφορές μεταξύ Λ1 και Λ2 ήταν αμελητέες (434,0 ± 15,7 και 446,6 ± 25,3 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> αντίστοιχα) και μόνο η Λ3 εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερες τιμές (384,1 ± 19,2 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). Αυτό είχε ως αποτέλεσμα το αερόβιο δυναμικό να είναι το υψηλότερο για την Λ1 στα 351,3 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, ενώ παρουσίασε ελάχιστη τιμή 218,8 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στην Λ3.



Εικόνα 2-13 Τυπικός και μέγιστος μεταβολικός ρυθμός (SMR και MMR) του λαβρακιού συναρτήσει της θερμοκρασίας. Μέσος όρος και τυπική απόκλιση (N = 15 ανά θερμοκρασία).

Figure 2-13 Standard and maximum metabolic rate (SMR and MMR) of E. sea bass as a function of temperature. Means and standard deviation (N = 15 per temperature).

### 2.3.6 Οξεία θερμική καταπόνηση

Στη δοκιμασία οξείας θερμικής καταπόνησης, τα ψάρια εμφάνισαν παρόμοια συμπεριφορά σε όλες τις θερμοκρασιακές συνθήκες. Αυτή χαρακτηρίστηκε από προοδευτική μείωση της κολυμβητικής τους δραστηριότητας με την αύξηση της θερμοκρασίας, και στη συνέχεια από έντονα σημάδια δυσφορίας και απότομης κίνησης λίγους βαθμούς Κελσίου πριν τα ψάρια φτάσουν στο κρίσιμο σημείο απώλειας της ισορροπίας τους. Αυτό το κρίσιμο σημείο επιτεύχθηκε ταχύτερα για τις υψηλότερες θερμοκρασίες εγκλιματισμού, με τον χρόνο αντίστασης να ανέρχεται στα 28, 24 και 15 λεπτά, αντίστοιχα, για τις τρεις πειραματικές συνθήκες. Η θερμοκρασία εγκλιματισμού είχε ισχυρή επίδραση στη μέγιστη κρίσιμη θερμοκρασία ( $F_{2,42} = 57,6, P < 0,001$ ). Συγκεκριμένα, η CT<sub>max</sub> αυξήθηκε από 38,05 ± 0,3 °C στην Λ1 σε 39,7 ± 0,6 °C στην Λ2, αλλά χωρίς περαιτέρω σημαντική αύξηση στην Λ3 (40,19 ± 0,5 °C). Μια πτωτική τάση παρατηρήθηκε επίσης στον λόγο απόκρισης εγκλιματισμού που υπολογίστηκε σε 0,412 μεταξύ Λ1 και Λ2 αλλά μόλις 0,098 μεταξύ Λ2 και Λ3, υποδεικνύοντας έτσι μειωμένο όφελος στην ικανότητα εγκλιματισμού πέραν των 28 °C. Ο δείκτης ARR για ο συνολικό θερμοκρασιακό εύρος εγκλιματισμού Λ1 - Λ3 υπολογίστηκε σε 0,237.

# 2.4 Αποτελέσματα πειράματος κρανιού

# 2.4.1 Παράμετροι αύξησης

Η θερμοκρασία είχε σημαντική επίδραση στους αυξητικούς δείκτες του κρανιού, με την K3 να διαφέρει συστηματικά από τις K1 και K2 καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, και με τις K1 και K2 να παρουσιάζουν μεταξύ τους διαφορές μετά τον δεύτερο μήνα. Επιπλέον, ο χρόνος είχε σημαντική επίδραση σε ορισμένες από τις εξεταζόμενες μεταβλητές, ενώ βρέθηκαν και σημαντικές αλληλεπιδράσεις.

#### 2.4.1.1 Κατανάλωση τροφής

Η κατανάλωση τροφής και επομένως και η όρεξη των ψαριών δεν διέφερε μεταξύ των K1 και K2, όπως φαίνεται και από την ημερήσια πρόσληψη τροφής (Εικόνα 2-14). Και στις δύο ομάδες, η ημερήσια πρόσληψη ανήλθε περίπου στο 1,5% του βάρους των ψαριών για τις πρώτες εβδομάδες του πειράματος και σταδιακά μειώθηκε στο 1,1%, καθώς το μέγεθος τους αυξήθηκε.



Εικόνα 2-14 Ημερήσια πρόσληψη τροφής (% BW d<sup>-1</sup>) κρανιού υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Figure 2-14 Daily feed intake (% BW  $d^{-1}$ ) of meagre under three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Means and standard deviation.

Ωστόσο, η όρεξη ήταν σημαντικά χαμηλότερη για την K3. Ειδικότερα, ενώ οι πρώτες εβδομάδες χαρακτηρίστηκαν από υψηλά ποσοστά ημερήσιας κατανάλωσης, η όρεξη των ψαριών μειώθηκε δραστικά μόλις επιτεύχθηκε η πειραματική θερμοκρασία στο τέλος της δεύτερης εβδομάδας. Για τους επόμενους δύο μήνες, η πρόσληψη τροφής παρέμεινε χαμηλότερη του 0,5% του βάρους των ψαριών ημερησίως. Ωστόσο, μια μικρή αύξηση (0,7% BW d<sup>-1</sup>) σημειώθηκε κατά τον τρίτο μήνα.

#### 2.4.1.2 Αύξηση βάρους

Ο αυξητικός ρυθμός, επηρεάστηκε έντονα από τους παράγοντες της θερμοκρασίας και του χρόνου, ενώ σημαντική ήταν και η αλληλεπίδρασή τους (θερμοκρασία:  $F_{2,18} = 277,4$ , P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,18} = 12,1$ , P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 9,6$ , P < 0,001). Συγκεκριμένα, ο ρυθμός αύξησης του βάρους των ψαριών ήταν σημαντικά υψηλότερος στην συνθήκη K1 τον δεύτερο και τον τρίτο μήνα συγκριτικά με τις άλλες συνθήκες (Εικόνα 2-15, α, Εικόνα 2-16). Αυτό είχε ως αποτέλεσμα, από το αρχικό βάρος των 149 g, τα ψάρια στην K1 να διπλασιαστούν σε μέγεθος μέχρι και τον δεύτερο μήνα και να φτάσουν σε τελικό βάρος 379 g τον τρίτο μήνα. Αξιόλογη ήταν και η αύξησης του βάρους στη συνθήκη K2, κυρίως τον πρώτο μήνα, με αισθητή μείωση του ρυθμού αύξησης τον δεύτερο μήνα και περαιτέρω επιβράδυνση τον τελευταίο μήνα. Ομοίως, το ολικό μήκος αυξήθηκε από την αρχική τιμή των 22,4 cm σε 33,3 cm για την K1 και 30,8 cm για την K2 μέχρι το τέλος του πειράματος. Οι διαφορές μεταξύ των δύο συνθηκών ήταν αμελητέες σημαντικές διαφορές από τις άλλες δύο σε όλες τις δειγματοληψίε. Οι συνολικές επιδόσεις των ψαριών ήταν κακές, με το ρυθμό αύξησης να είναι οριακά θετικός για την πρώτη δειγματοληψία.


Εικόνα 2-15 Εξέλιζη του βάρους (α) και του ολικού μήκους (β) για τις τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση.

Figure 2-15 Evolution of weight (a) and total length ( $\beta$ ) under three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Means and standard deviation.



Εικόνα 2-16 Απόλυτος ρυθμός αύξησης του βάρους (g d<sup>-1</sup>) για τον κρανιό υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Τα ιστογράμματα αναπαριστούν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικός αριθμούς.

Figure 2-16 Absolute growth rate  $(g d^{-1})$  of meagre under three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

#### 2.4.1.3 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

Στο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR), η θερμοκρασία είχε ισχυρή επίδραση ( $F_{2,18}$ = 14,2, P < 0,001), αλλά η επίδραση του χρόνου ήταν μη σημαντική, όπως επίσης και η αλληλεπίδραση μεταξύ τους (χρόνος:  $F_{2,18} = 1,9$ , P < 0,174, αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 0,8$ , P = 0,515). Σε συμφωνία με την πρόσληψη τροφής αλλά, και την αύξηση του βάρους των ψαριών, η συνθήκη K1 παρουσίασε την καλύτερη μετατρεψιμότητα, με τις τιμές του FCR να κυμαίνονται από 1 έως 1,3 κατά τη διάρκεια του πειράματος (Εικόνα 2-17). Για τη συνθήκη K2, το FCR ήταν σημαντικά υψηλότερο τον δεύτερο και τον τρίτο μήνα (FCR 1,9 και 2,3), αλλά όχι τον πρώτο μήνα. Τέλος, για την K3, ο συνδυασμός αμελητέου ή αρνητικού ρυθμού αύξησης και χαμηλής πρόσληψης τροφής είχε ως αποτέλεσμα το FCR να εμφανίζει αρνητικές τιμές σε όλη διάρκεια πειράματος.



Εικόνα 2-17 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για τον κρανιό υπό τρείς θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Τα ιστογράμματα αναπαριστούν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς.

Figure 2-17 Feed Conversion Ratio for meagre under three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

### 2.4.1.4 Σωματομετρικοί δείκτες

Η θερμοκρασία είχε σημαντική επίδραση και στους τρεις σωματομετρικούς δείκτες που εξετάστηκαν. Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) παρουσίασε μείωση με τη θερμοκρασία ( $F_{2,18} = 0,2, P = 0,008$ ), και δεν επηρεάστηκε από τον χρόνο ή την αλληλεπίδραση θερμοκρασίας - χρόνου (χρόνος:  $F_{2,18} = 0,9, P = 0,488$ , αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 0,7, P = 0,682$ ). Ο δείκτης παρουσίασε εξαιρετικά συντηρητικές τιμές στη συνθήκη K1, περίπου 2,2% καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ κυμάνθηκε μεταξύ 1,7 - 2% για την K2 (Εικόνα 2-18, α). Αντίθετα, ο HSI ήταν σημαντικά χαμηλότερος στην K3, λαμβάνοντας τιμές μεταξύ 1,5 ± 0,2% και 1,2 ± 0,2%.



Εικόνα 2-18 Σωματομετρικοί δείκτες στον κρανιό υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). α) Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), β) Καρδιοσωματικός δείκτης (CSI), (γ) Δείκτης ευρωστίας (K). Τα ιστογράμματα αναπαριστούν τον μέσο όρο μεταξύ επαναλήψεων και οι μπάρες την τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς.

Figure 2-18 Somatometric indices for meagre under three temperature treatments ( $K1 = 24 \,^{\circ}C$ ,  $K2 = 29 \,^{\circ}C$ ,  $K3 = 34 \,^{\circ}C$ ). a) Hepatosomatic index (HSI),  $\beta$ ) Cardiosomatic index (CSI),  $\gamma$ ) Condition factor (K). Bars indicate means across replicates and lines the standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers.

Ο καρδιοσωματικός δείκτης (CSI) επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία ( $F_{2,18} = 0,72,7, P = 0,001$ ) και βρέθηκε επίσης σημαντική αλληλεπίδραση με τον χρόνο (χρόνος:  $F_{2,18} = 1,7, P = 0,291$ , αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 6,7, P = 0,012$ ). Συγκεκριμένα, ο δείκτης παρουσίασε μικρή μεταβλητότητα τους τρεις μήνες για τις K1 και K2, χωρίς να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο συνθηκών σε οποιαδήποτε δειγματοληψία (Εικόνα 2-18, β). Για τη συνθήκη K1, ο δείκτης κυμάνθηκε μεταξύ 0,13 - 0,162%, και για την K2 μεταξύ 0,12 - 0,14%. Παρόμοιες τιμές υπολογίστηκαν για την K3 κατά τον πρώτο μήνα (0,17 ± 0,03%). Ωστόσο, ο CSI παρουσίασε σημαντική αύξηση στους μετέπειτα μήνες με τιμές 0,3 ± 0,07 και 0,26 ± 0,02% για τη δεύτερη και την τρίτη δειγματοληψία, αντίστοιχα.

Τέλος, για τον δείκτη ευρωστίας (Κ) στατιστικά σημαντικές επιδράσεις ανιχνεύτηκαν για τους παράγοντες της θερμοκρασίας και του χρόνου, και οριακά σημαντικές για την αλληλεπίδραση μεταξύ τους (θερμοκρασία:  $F_{2,18} = 134,1$ , P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,18} = 26,5$ , P < 0,001, αλληλεπίδραση:  $F_{4,18} = 3,5$ , P = 0,037). Ο δείκτης δεν διέφερε μεταξύ των K1 και K2 αλλά ήταν σημαντικά χαμηλότερος για την K3 και στις τρεις δειγματοληψίες. Επιπλέον, για την K3 υπήρξε μια προοδευτική μείωση από 0,99 τον πρώτο μήνα σε 0,86 τον δεύτερο (Εικόνα 2-18, γ).

### 2.4.1.5 Θνησιμότητα

Σημαντική θνησιμότητα σημειώθηκε για την υψηλότερη πειραματική θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, η θνησιμότητα ήταν αμελητέα για τις συνθήκες K1 και K2, αλλά στην K3 περισσότερα από τα μισά ψάρια του αρχικού πληθυσμού απεβίωσαν έως τη λήξη του πειράματος. Ειδικότερα, οι πρώτες θνησιμότητες καταγράφηκαν περίπου μία εβδομάδα μετά την επίτευξη της πειραματικής θερμοκρασίας και συνεχίστηκαν με ένα ημερήσιο ποσοστό θνησιμότητας 0,7% d<sup>-1</sup> για όλο τον πρώτο μήνα. Το ποσοστό αυτό αυξήθηκε στο 2,8% για τον δεύτερο μήνα, ενώ η μείωση της θερμοκρασίας κατά 0,5 °C κατά τον τρίτο μήνα μείωσε τη θνησιμότητα στο 0,8% d<sup>-1</sup>.

Αν και στις περισσότερες περιπτώσεις η αιτία θανάτου δεν μπόρεσε να προσδιοριστεί με ακρίβεια, φαίνεται ότι αυτή ήταν αιματολογικής φύσης. Ειδικότερα, πολλά από το ψάρια που κατέληξαν, έφεραν μεγάλους θρόμβους στη ραχιαία περιοχή (Εικόνα 2-19, γ-η). Αυτοί οι θρόμβοι εντοπίζονταν κοντά στη σπονδυλική στήλη είτε στη δεξιά είτε στην αριστερή πλευρά των ψαριών και είχαν διάμετρο 1-4 cm, ενώ μπορεί να ήταν σφαιρικοί ή ακανόνιστου σχήματος. Σε ένα τουλάχιστον ψάρι καταγράφηκαν δύο θρόμβοι εκατέρωθεν της σπονδυλικής στήλης, οι οποίοι όμως ήταν αρκετά μικρότεροι. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, οι θρόμβοι προκαλούσαν παραμορφώσεις στο σχήμα των ψαριών και έτσι μπορούσαν εύκολα να εντοπιστούν ως ευμεγέθη εξογκώματα με απλή οπτική παρατήρηση (Εικόνα 2-19, α) πάνω από τις δεξαμενές. Τα ψάρια που τους ανέπτυξαν ήταν γενικά λιγότερο ενεργά από τα υπόλοιπα, αλλά ωστόσο μπορούσαν να τρέφονται κανονικά και να διατηρούν τον ραχιαίο-κοιλιακό τους προσανατολισμό. Το διάστημα από την πρώτη οπτική παρατήρηση των εξογκωμάτων μέχρι τη στιγμή που τα ψάρια κατέληγαν, τυπικά κυμαίνονταν από μία έως τρείς ημέρες. Επιπλέον, και ανεξάρτητα από τους αναπτυσσόμενους θρόμβους, ο σπλήνας και τα βράγχια όλων των ψαριών που πέθαναν παρουσίασαν έντονο αποχρωματισμό (Εικόνα 2-19, β).



Εικόνα 2-19 Παθολογίες σε κρανιό: a) εζωτερική παραμόρφωση ψαριού λόγω θρόμβου, β) αποχρωματισμός σπλήνα και βραγχίων, γ-δ) θρόμβοι στη δεζιά πλευρά, ε) θρόμβος στην αριστερή πλευρά, στ) θρόμβος πριν την απομάκρυνση, ζ) εκτομή σφαιρικού θρόμβου, η) εκτομή ακονόνιστου θρόμβου.

Figure 2-19 Pathologies in meagre: a) external deformity caused by blood clot, b) decoloration of spleen and gills,  $\gamma$ - $\delta$ ) blood clots on the right side,  $\varepsilon$ ) blood clot on the left side,  $\sigma\tau$ ) blood clot before dissection,  $\zeta$ ) dissection of spherical blood clot,  $\eta$ ) dissection of irregular-shaped blood clot.

## 2.4.2 Χρόνος Γαστρικής Κένωσης

Όπως φαίνεται από τον χρόνο γαστρικής κένωσης (Εικόνα 2-20, Πίνακας 2-5) υπήρχε μια θετική συσχέτιση της θερμοκρασίας με την ταχύτητα πέψης, συγκεκριμένα, ήταν ταχύτερη στους 29°C σε σχέση με τους 24 °C.



Εικόνα 2-20 Στομαχικό περιεχόμενο κρανιού για διάρκεια 32 ωρών μετά το τάισμα υπό δύο θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C). Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο μεταξύ ατόμων σε κάθε χρονικό σημείο και οι μπάρες την τυπική απόκλιση (N = 4), ενώ οι γραμμές την προσαρμογή του αντίστοιχου εκθετικού μοντέλου στα δεδομένα.

Figure 2-20 Stomach residue of meagre for 32 hours following feeding, under two temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C). Points denote mean values among individuals for each time point and vertical lines the standard deviation (N = 4), while the curves indicate the fit of the respective exponential models.

Βάσει της ανάλυση παλινδρόμησης το εκθετικό μοντέλο ( $y = ae^{bx}$ ) παρουσίασε την καλύτερη προσαρμογή των δεδομένων, με το περιεχόμενο του στομάχου συναρτήσει χρόνου να περιγράφεται από τη σχέση  $y = 1,34e^{-0,1382x}$  για τη συνθήκη K1 και  $y = 1,11e^{-0,179x}$  για την K2 και αντίστοιχους συντελεστές προσδιορισμού ( $r^2$ ) 0,94 και 0,91. Η κατά το ήμισυ κένωση του στομάχου (GET<sub>50%</sub>) επιτεύχθηκε στις 5,4 ώρες για την K1 και μόλις στις 3,7 ώρες για την K2 ενώ οι αντίστοιχοι χρόνοι για το GET<sub>75%</sub> ήταν 10,5 και 6,6 ώρες. Τέλος, η κένωση του στομάχου ολοκληρώθηκε στις 24 ώρες για την K2, ενώ ίχνη τροφής βρέθηκαν στην K1 έως και τη λήξη της δοκιμής στις 32 ώρες μετά το τάισμα. Πίνακας 2-5 Χρόνος γαστρικής κένωσης (GET) κρανιού υπό δύο θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C) αναφορικά με το ποσοστό της τροφής που έχει απομακρυνθεί από το στομάχι.

Table 2-5 Gastric Evacuation Time (GET) of meagre under two temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C) referring to the percentage (50, 75, 100%) of initial feed that has been removed from the stomach.

Πειραματική συνθήκη	GET <sub>50%</sub> (h) (εκτιμώμενο)	GET <sub>75%</sub> (h) (εκτιμώμενο)	GET <sub>100%</sub> (h) (παρατηρούμενο)
K1	5,4	10,5	>32
K2	3,7	6,6	24

## 2.4.3 Αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις

Για τις περισσότερες από τις εξεταζόμενες μεταβλητές καταγράφηκαν διακριτές διαφορές μεταξύ της υψηλότερης θερμοκρασίας και των άλλων δύο συνθηκών, ενώ για ορισμένες από αυτές υπήρχαν επίσης σημαντικές διαφορές μεταξύ των K2 και K3. Επιπλέον, ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις η επίδραση του παράγοντα χρόνος δεν ήταν στατιστικά σημαντική, παρατηρήθηκαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις της θερμοκρασίας με τον χρόνο για πολλές από τις εξεταζόμενες μεταβλητές. Τα αποτελέσματα των αιματολογικών και βιοχημικών αναλύσεων για τον κρανιό συνοψίζονται στον Πίνακα 2-6.

### 2.4.3.1 Αιματολογικές μεταβλητές

Σχετικά με τις αιματολογικές μεταβλητές, ο αιματοκρίτης επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία ( $F_{2,108} = 418,8$ , P < 0,001) αλλά όχι από τον χρόνο ( $F_{2,108} = 1,6$ , P = 0,303), ενώ διαπιστώθηκε επίσης σημαντική αλληλεπίδραση ( $F_{4,108} = 5,9$ , P = 0,016). Συγκεκριμένα, ο αιματοκρίτης στην K1 κυμάνθηκε μεταξύ 32 και 35% κατά τη διάρκεια του πειράματος και το τεστ Tukey έδειξε ότι διέφερε σημαντικά από την K2 στον πρώτο ( $26,1 \pm 1\%$ ), αλλά όχι στους επόμενους μήνες. Επίσης, διαφορές παρουσιάστηκαν και στην K3, όπου ο αιματοκρίτης ήταν σημαντικά χαμηλότερος από τις άλλες δύο συνθήκες κατά τον δεύτερο και τρίτο μήνα (18%). Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφηκαν για την αιμοσφαιρίνη (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 107,8$ , P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,108} = 3,4$ , P = 0,139, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 5,3$ , P = 0,04). Οι σημαντικότερες διαφορές εντοπίστηκαν μεταξύ των δυο πρώτων συνθηκών και της K3 με την τελευταία να εμφανίζει συστηματικά χαμηλότερες τιμές σε όλες τις δειγματοληψίες (μεταξύ 2,2-2.6 g dl<sup>-1</sup>). Πίνακας 2-6 Αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες στον κρανιό για τις τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C) κατά τη διάρκεια του πειράματος. Μέσος όρος και τυπική απόκλιση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πειραματικών συνθηκών σε κάθε δειγματοληψία (μήνα) υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα, ενώ μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε συνθήκη με διαφορετικούς αριθμούς. ND: not determined.

Table 2-6 Hematological and biochemical indices of meagre for the three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C) during the trial. Means and standard deviation. Statistically significant differences between treatments at each sampling (month) are denoted with different letters, while between samplings for each treatment are indicated with different numbers. ND: not determined.

	1°ς μήνας		2°ς μήνας		3°ς μήνας				
	K1	К2	K3	K1	К2	K3	K1	K2	K3
Αιματοκρίτης	31,7	26,1	28,2	31	33,4	18,2	34	32	17,5
(%)	± 1,4 <sup>a</sup>	± 0,9 <sup>b</sup>	± 2,8 <sup>a,b</sup>	± 2,4 <sup>a</sup>	± 1,8ª	± 1,3 <sup>b</sup>	± 1,8 <sup>a</sup>	± 2,8ª	± 2,4 <sup>b</sup>
Αιμοσφαιρίνη	ND	4,8	2,2	4,7	6,1	2,4	7,2	7,3	2,6
(g dl <sup>-1</sup> )		± 0,6 <sup>a</sup>	± 0,7 <sup>b</sup>	± 0,7 <sup>a</sup>	± 0,6 <sup>b</sup>	± 0,2 <sup>c</sup>	± 0,7 <sup>a</sup>	± 1,4 <sup>a</sup>	± 0,8 <sup>b</sup>
Τριγλυκερίδια	2,9	5,2	4,4	9,9	13,7	3,3	9,6	10,7	1,8
(mmol L <sup>-1</sup> )	$\pm 0,4^{a,1}$	± 0,9 <sup>b,1</sup>	± 1,7 <sup>b,1</sup>	$\pm 0,2^{a,2}$	± 2,7 <sup>b,2</sup>	± 0,6 <sup>c,1</sup>	$\pm 0,8^{a,2}$	± 1,0 <sup>a,2</sup>	± 0,4 <sup>b,3</sup>
Γλυκόζη	4,2	4,5	5,2	4,7	8,9	5,5	4,6	$\begin{array}{l} 6,9\\ \pm \ 0,9^{\mathrm{b}}\end{array}$	4,9
(mmol L <sup>-1</sup> )	± 0,6 <sup>a</sup>	± 0,1ª	± 0,4 <sup>b</sup>	± 0,3 <sup>a</sup>	± 1,6 <sup>b</sup>	± 1,5 <sup>a,1</sup>	± 0,6 <sup>a</sup>		± 1,0 <sup>a</sup>
Χοληστερόλη	3,3	3,3	3,4	3,7	4,6	2,3	3,4	4,4	2,2
(mmol L <sup>-1</sup> )	± 0,6 <sup>a</sup>	± 0,9 <sup>a</sup>	± 1,2ª	± 0,4 <sup>a</sup>	± 1,1 <sup>a</sup>	± 0,6 <sup>b</sup>	± 0,4 <sup>a</sup>	± 0,9ª	± 0,8 <sup>b</sup>
Ολικές πρωτεΐνες	3,6	3,9	3,4	4,0	4,0	3,3	4,0	4,3	3,7
(g dl <sup>-1</sup> )	$\pm 0,3^{ab}$	± 0,0ª	± 0,3 <sup>b</sup>	± 0,1 <sup>a</sup>	± 0,3 <sup>a</sup>	± 0,4 <sup>b</sup>	± 0,2 <sup>a</sup>	± 0,2ª	± 0,4 <sup>a</sup>
Γαλακτικό οξύ (mmol L-1)	1,6 ± 0,4 <sup>a,1</sup>	2,8 ± 0,5 <sup>b,1</sup>	1,9 ± 0,3 <sup>a,1</sup>	$1,4 \pm 0,2^{a,1}$	2,6 ± 0,8 <sup>b,1</sup>	2,9 $\pm 0,6^{b,2}$	1,8 ± 0,5 <sup>a,1</sup>	$\begin{array}{l} \textbf{3,6} \\ \pm ~\textbf{0,5^{b,2}} \end{array}$	2,5 ± 0,3 <sup>c,1,2</sup>
Κορτιζόλη	1,3	1,3	1,9	0,5	1,2	5,2	0,9	1,4	6,4
(ng ml <sup>-1</sup> )	$\pm 0,8^{a,1}$	± 0,7 <sup>a,1</sup>	± 0,5 <sup>b,1</sup>	± 0,6 <sup>a,1</sup>	$\pm 0,8^{a,1}$	$\pm 2^{b,2}$	$\pm 0,8^{a,1}$	± 0,9 <sup>a,1</sup>	± 3,4 <sup>b,2</sup>
GPx	594	838	321	795	759	267	755	729	167
(nmol mg pr <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	± 94 <sup>a</sup>	± 97 <sup>b</sup>	± 213°	± 176 <sup>a</sup>	± 210 <sup>a</sup>	± 140 <sup>b</sup>	± 135 <sup>a</sup>	± 249ª	± 135 <sup>b</sup>

### 2.4.3.2 Βιοχημικές μεταβλητές

Για τις βιοχημικές παραμέτρους, η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων επηρεάστηκε από τη θερμοκρασία και τον χρόνο, ενώ υπήρξε και σημαντική αλληλεπίδραση των δυο παραγόντων (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 85$ , P = 0,001, χρόνος:  $F_{2,108} = 26,4$ , P = 0,005, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} =$ 18,9, P < 0.001). Για τις συνθήκες K2 και K3, η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων ήταν υψηλότερη τον πρώτο μήνα σε σύγκριση με την K1  $(5,2 \pm 0.9, 5,2 \pm 1.9 \text{ και } 2.9 \pm 0.4 \text{ mmoles } \text{L}^{-1},$ αντίστοιχα), αλλά για το υπόλοιπο του πειράματος οι K1 και K2 παρέμειναν σε παρόμοια επίπεδα με μόνο την K3 να εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις  $(3,3 \pm 0,6)$  και  $1,8 \pm 0,4$  mmoles L<sup>-1</sup> για δεύτερο και τρίτο μήνα, αντίστοιχα). Τα επίπεδα γλυκόζης επίσης επηρεάστηκαν σημαντικά από τη θερμοκρασία ( $F_{2,108} = 16, P = 0.05$ ), με τη συνθήκη K2 να παρουσιάζει υψηλότερες τιμές από τις άλλες δύο συνθήκες. Συγκεκριμένα, τον δεύτερο μήνα η συγκέντρωση στην Κ2 ήταν σχεδόν διπλάσια  $(8,9 \pm 1,6 \text{ mmoles } \text{L}^{-1})$  συγκριτικά με τις άλλες δυο συνθήκες, ενώ παρέμεινε σημαντικά υψηλότερη και στον τρίτο μήνα  $(6.9 \pm 0.9 \text{ mmoles } \text{L}^{-1})$ . Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ δειγματοληψιών για κάθε πειραματική συνθήκη δεν ήταν σημαντικές (χρόνος:  $F_{2,108} = 3,2, P =$ 0,15, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 4.5, P = 0.3$ ). Η χοληστερόλη επίσης επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία, ενώ βρέθηκε και αλληλεπίδραση με τον χρόνο (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 47, 6, P =$ 0,002, χρόνος:  $F_{2,108} = 0.5$ , P = 0.616, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 5.7$ , P = 0.018). Μεταξύ των δύο πρώτων συνθηκών δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές κατά τη διάρκεια του πειράματος, με τη συγκέντρωση γοληστερόλης να κυμαίνεται από 3.3 έως 4,6 mmoles  $L^{-1}$ . Ωστόσο, σημαντικά γαμηλότερες τιμές καταγράφηκαν για τη συνθήκη K3 κατά τη δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία  $(2,3 \pm 0,6 \text{ και } 2,2 \pm 0,8 \text{ mmoles } L^{-1},$ αντίστοιχα).

Ομοίως, η συγκέντρωση ολικής πρωτεΐνης επηρεάστηκε από τη θερμοκρασία ( $F_{2,108} = 7,1$ , P = 0,048) και η K3 εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερες τιμές από τις άλλες δύο συνθήκες για τους πρώτους δύο μήνες. Ωστόσο, η επίδραση του παράγοντα χρόνος καθώς και η αλληλεπίδραση βρέθηκαν οριακά μη σημαντικές (χρόνος:  $F_{2,108} = 6,6$ , P = 0,054, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 3,7$ , P = 0,054). Επίσης, η θερμοκρασία, ο χρόνος και η αλληλεπίδρασή τους είχαν σημαντικές επιδράσεις στη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 79$ , P = 0,001, χρόνος:  $F_{2,108} = 18$ , P = 0,01, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 3,99$ , P = 0,046). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα γαλακτικού οξέος παρέμειναν αμετάβλητα για την K1 καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (1,4-1,8 mmol L<sup>-1</sup>) αλλά ήταν συστηματικά υψηλότερα για την K2 σε όλες τις δειγματοληψίες, παρουσιάζοντας μάλιστα την υψηλότερη συγκέντρωση τον τρίτο μήνα (3,6 ± 0,5 mmol L<sup>-1</sup>).

Παρομοίως, η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στην K3 διέφερε από την K1 τον δεύτερο μήνα και από τις K1 και K2 τον τρίτο μήνα.

Η κορτιζόλη επηρεάστηκε επίσης σημαντικά από τη θερμοκρασία, τον χρόνο και την αλληλεπίδρασή τους (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 173.6$ , P < 0,001, χρόνος:  $F_{2,108} = 22.1$ , P = 0,033, αλληλεπίδραση:  $F_{4,108} = 4.8$ , P = 0,001) με τη συγκέντρωσή της στις συνθήκες K1 και K2 να κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (0.4 - 1.4 ng ml<sup>-1</sup>) κατα τη διάρκεια του πειράματος ενώ παρουσίασε υψηλότερες τιμές στην K3 σε όλες της δειγματοληψίες.

Τέλος, όσον αφορά το αντιοξειδωτικό ένζυμο GPx, η θερμοκρασία είχε σημαντική επίδραση (θερμοκρασία:  $F_{2,108} = 86,5, P = 0,001, \chi$ ρόνος:  $F_{2,108} = 2,2, P = 0,082$ ). Όλες οι συνθήκες διέφεραν μεταξύ τους τον πρώτο μήνα, ενώ για τις επόμενες δειγματοληψίες οι K1 και K2 παρουσίασαν παρόμοια επίπεδα, με μόνο την K3 να εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερες τιμές. Η αλληλεπίδραση θερμοκρασία και χρόνου ήταν επίσης σημαντική ( $F_{4,108} = 4,6, P = 0,02$ ).

#### 2.4.3.3 Σωματική σύσταση

Η θερμοκρασία είχε σημαντική επίδραση στη σωματική σύσταση του κρανιού, συγκεκριμένα στην υγρασία ( $F_{2,12} = 119,2, P < 0,001$ ), τις ολικές πρωτεΐνες ( $F_{2,12} = 127,7, P < 0,001$ ) και τα ολικά λίπη ( $F_{2,12} = 16,9, P < 0,001$ ), ενώ η περιεκτικότητα σε τέφρα δεν επηρεάστηκε σημαντικά (Πίνακας 2-7). Ειδικότερα, η υγρασία επηρεάστηκε θετικά από τη θερμοκρασία, με όλες τις θερμοκρασιακές ομάδες να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Για την K3, η περιεκτικότητα σε υγρασία ήταν υψηλότερη κατά σχεδόν 10% σε σχέση με την K1, ενώ η K2 παρουσίασε ενδιάμεσες τιμές. Η αντίθετη τάση παρατηρήθηκε για τις ολικές πρωτεΐνες, οι οποίες μειώθηκαν από 17 ± 0,3% στην K1, σε 13,6 ± 0,6% στην K2, και σε 10,3 ± 0,7% στην K3. Τα ποσοστά ολικών λιπών μειώθηκαν επίσης με τη θερμοκρασία, από 8,0 ± 0,8% στην K1 σε 5,4 ± 0,7% στην K3. Τα ολικά λίπη για την K2 παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές οι οποίες, ωστόσο, δεν ήταν σημαντικά διαφορετικές από τις άλλες δύο θερμοκρασίες. Τέλος, η περιεκτικότητα σε τέφρα δεν ήταν συνθηκών και κυμάνθηκε μεταξύ 2,1 – 3,2%.

Πίνακας 2-7 Σωματική σύσταση κρανιού (υγρασία, ολικές πρωτεΐνες, ολικά λίπη, τέφρα) υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C). Μέσος όρος και τυπική απόκλιση (N = 15 ανά θερμοκρασία). Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών υποδηλώνονται με διαφορετικά γράμματα.

Table 2-7 Proximate body composition of meagre (moisture, total proteins, total lipids, ash) under three temperature treatments ( $K1 = 24 \ ^{\circ}C$ ,  $K2 = 29 \ ^{\circ}C$ ,  $K3 = 34 \ ^{\circ}C$ ). Means and standard deviation (N = 15 per temperature). Statistically significant differences between temperatures are indicated by different letters.

	K1	К2	К3
Υγρασία (%)	72,2±1,1ª	76,8±0,8 <sup>b</sup>	80,9±0,9°
Ολικές πρωτεΐνες (%)	17,3±0,3ª	13,6±0,8 <sup>b</sup>	10,3±0,7°
Ολικά λίπη (%)	8,0±0,8ª	6,9±0,5 <sup>ab</sup>	5,4±0,7 <sup>b</sup>
Τέφρα (%)	2,7±0,6	2,1±1,1	3,2±0,8

## 2.4.4 Γονιδιακή έκφραση

Αναφορικά με τη σχετική γονιδιακή έκφραση, οι πιο σημαντικές διαφορές καταγράφηκαν για το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα GR, τόσο στο ήπαρ ( $F_{2,12} = 38,7, P < 0,001$ ) όσο και στον σπλήνα ( $F_{2,12} = 71,6, P < 0,001$ ) (Εικόνα 2-21). Και στους δύο ιστούς, η έκφραση του GR ήταν σημαντικά μειωμένη στην υψηλότερη θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, η έκφραση του εμφανίστηκε κατά δύο φορές μειωμένη στο ήπαρ για την K3 σε σχέση με τις άλλες δύο θερμοκρασίες, ενώ για τον σπλήνα όλες οι θερμοκρασιακές συνθήκες διέφεραν μεταξύ τους με την K2 να παρουσιάζει την υψηλότερη έκφραση και την K3 τη χαμηλότερη. Όσον αφορά το γονίδιο που κωδικοποιεί την HSP70, δεν υπήρχε διαφορά στο πρότυπο έκφρασης στο ήπαρ, ενώ στον σπλήνα ήταν σημαντικά μειωμένη για την K3 συγκριτικά με τις K1 και K2 ( $F_{2,12} = 19,5, P < 0,001$ ). Επιπλέον, για το γονίδιο της HSP90, φαίνεται ότι και στους δύο ιστούς υπάρχει μια μικρή τάση για αύξηση της έκφρασής της στην υψηλότερη θερμοκρασία, ωστόσο δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



Εικόνα 2-21 Σχετική έκφραση τριών γονιδίων-στόχων (GR, HSP70 και HSP90) για τον κρανιό υπό τρεις θερμοκρασιακές συνθήκες (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C) στο ήπαρ και στον σπλήνα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταζύ των συνθηκών υποδεικνύονται με διαφορετικά γράμματα,, ενώ τα σημεία αναπαριστούν ατομικές μετρήσεις (N = 5 ανά θερμοκρασία).

Figure 2-21 Relative expression of three target genes (GR, HSP70 and HSP90) for meagre under three temperature treatments (K1 = 24 °C, K2 = 29 °C, K3 = 34 °C) in the liver and the speen. Statistically significant differences between treatments are denoted by different letters, while points indicate individual measurements (N = 5 per temperature).

## 2.4.5 Μεταβολικός ρυθμός

Kατά τη μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού στον κρανιό, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του SMR με την αύξηση της θερμοκρασίας από 91,4 ± 21 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στους 24 °C σε 189,8 ± 43,6 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στους 34 °C (Εικόνα 2-22). Ωστόσο, ο MMR σημείωσε μικρές διαφορές μεταξύ των δύο πρώτων συνθηκών (351,7 ± 55,5 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> και 366,6 ± 42,6 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> για τις K1 και K2, αντίστοιχα), με μόνο την K3 να εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερες τιμές (318 ± 48,8 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). Αυτό είχε ως αποτέλεσμα το αερόβιο δυναμικό να διαφέρει σημαντικά ( $F_{2,33} = 53,6, P < 0,001$ ) μεταξύ όλων των ομάδων, όντας μέγιστο για την K1 (260,3 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), ελάχιστο για την K3 (129 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), και ενδιάμεσο για την K2 (233,7 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>).



Εικόνα 2-22 Τυπικός και μέγιστος μεταβολικός ρυθμός (SMR και MMR) του κρανιού συναρτήσει της θερμοκρασίας. Μέσος όρος και τυπική απόκλιση (N = 15 ανά θερμοκρασία).

Figure 2-22 Standard and maximum metabolic rate (SMR and MMR) of meagre as a function of temperature. Means and standard deviation (N = 15 per temperature).

## 2.4.6 Οξεία θερμική καταπόνηση

Σχετικά με την έκθεση σε οξεία θερμική καταπόνηση, η δοκιμασία πραγματοποιήθηκε αποκλειστικά για τις συνθήκες K1 και K2. Λόγω της αυξημένης θνησιμότητας στην K3, ο αριθμός εναπομείναντων ατόμων στο τέλος του πειράματος δεν επαρκούσε για να συμπεριληφθεί αυτή η συνθήκη στην ανάλυση. Για τις K1 και K2, τα άτομα κρανιού εκδήλωσαν την τυπική συμπεριφορά κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, με προοδευτική μείωση της κινητικότητάς τους και επακόλουθη εμφάνιση ενδείξεων δυσφορίας, καθώς τα ψάρια προσέγγιζαν την CT<sub>max</sub>. Ο χρόνος αντίστασης για αυτές τις θερμοκρασίες υπολογίστηκε αντίστοιχα στα 20 και 26 λεπτά, ενώ παρατηρήθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ της CT<sub>max</sub> και της θερμοκρασίας εγκλιματισμού (*F*<sub>1.29</sub> = 379, *P* < 0,001). Ειδικότερα, καταγράφηκε μέγιστη κρίσιμη θερμοκρασία 33,9 ± 0,5 °C για την K1, ενώ ήταν σημαντικά υψηλότερη (37,1 ± 0,6 °C) για την K2. Τέλος ο δείκτης εγκλιματισμού AAR μεταξύ αυτών των πειραματικών συνθηκών υπολογίστηκε σε 0,64.

# Κεφάλαιο<sup>3</sup>

# 3 Μαθηματική μοντελοποίηση

# 3.1 Εισαγωγή

Τα μαθηματικά μοντέλα αποτελούν αναπόσπαστο εργαλείο διαχείρισης σε όλα τα συστήματα εκτροφής παραγωγικών ζώων (Amitrano et al., 2020, Lešić et al., 2021), μεταξύ των οποίων και στις υδατοκαλλιέργειες λόγω της ικανότητάς τους να προσομοιώνουν και να προβλέπουν μεταβολές στην κατάσταση των ψαριών υπό διαφορετικές συνθήκες εκτροφής (Brigolin et al., 2014, Chahid et al., 2022, Zhou et al., 2005). Επιπρόσθετα, αποτελούν και πολύτιμο εργαλείο μελέτης του μεταβολισμού, αφού επιτρέπουν διερεύνηση των παραμέτρων και σχέσεων που τον περιγράφουν (Nijhout et al., 2015, Zavala et al., 2019). Όπως περιεγράφηκε στο Κεφάλαιο 1, η περαιτέρω ανάπτυξη τέτοιων εργαλείων για εμπορικά είδη υδατοκαλλιέργειας αποτελεί αναγκαιότητα υπό το πρίσμα της κλιματικής αλλαγής, ενώ είναι σαφές ότι δεν επαρκεί η απλή εμπειρική περιγραφή τους, αλλά τα εργαλεία αυτά πρέπει να δομούνται πάνω σε βάσιμους Δυναμικού Ισοζυγίου (DEB) καθώς και η καταλληλόλητα αυτού του πλαισίου να περιγράψει το ενεργειακό ισοζύγιο οργανισμών, μεταξύ των οποίων και ψαριών.

Το Κεφάλαιο αυτό επικεντρώνεται στην ανάπτυξη τέτοιων μοντέλων για το λαβράκι και τον κρανιό τα οποία βασίζονται στη θεωρία DEB. Στις ενότητές του, περιέχει την περιγραφή του μοντέλου συμπεριλαμβάνοντας τη θεωρητική του βάση, τις παραδοχές που υιοθετούνται, καθώς και τον τρόπο με τον οποίο μοντελοποιούνται οι επιδράσεις της θερμοκρασίας στους μεταβολικούς ρυθμούς. Η περιγραφή του μοντέλου περιλαμβάνει επίσης την ανάπτυξη εξισώσεων για τον προσδιορισμό της σωματικής σύστασης, καθώς και μια παράγραφο που αναφέρεται στη μοντελοποίηση της οξείας θερμικής καταπόνησης με βιοενεργητικούς όρους. Στη συνέχεια ακολουθεί η περιγραφή της διαδικασίας παραμετροποίησης και επαλήθευσης των μοντέλων. Επιπλέον, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εκτίμησης των παραμέτρων και της επαλήθευσης. Τέλος παρουσιάζονται αποτελέσματα προσομοιώσεων που αποτελούν περαιτέρω

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Μέρος των αποτελεσμάτων του Κεφαλαίου 3 περιέχεται στις δημοσιεύσεις των Stavrakidis-Zachou et al. (2019, 2021a, 2021c)

διερευνήσεις σχετικά με τον καθορισμό των θερμικών ορίων των ψαριών και την επίδραση της θερμοκρασίας στα ενεργειακά τους αποθέματα.

## 3.2 Ανάπτυξη Μοντέλων

### 3.2.1 Περιγραφή του DEB μοντέλου

Μια θεμελιώδης έννοια της DEB θεωρίας είναι ότι η βιομάζα ενός οργανισμού αποτελείται από δομική μάζα, εκφρασμένη είτε ως δομικός όγκος (ο όγκος που καταλαμβάνει η δομική μάζα, structural body volume, V) είτε ως δομικό μήκος (structural length,  $L = V^{1/3}$ ) και αποθέματα (reserve, E). Επιπρόσθετα, στην περίπτωση ενήλικων ατόμων λαμβάνει συνεισφορές και από ένα μεταβατικό αναπαραγωγικό απόθεμα (reproduction buffer,  $E_R$ ) που σχετίζεται με την παραγωγή γαμετών και την αναπαραγωγική διαδικασία. Κάθε ένα από αυτά τα συστατικά βιομάζας αποτελείται από ένα μείγμα οργανικών ενώσεων όπως πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες που σχηματίζουν γενικευμένες χημικές ενώσεις σταθερής σύνθεσης (generalized compounds). Ο δομικός όγκος, (V), τα αποθέματα (E), το αναπαραγωγικό απόθεμα ( $E_R$ ) και η ωρίμανση (maturity,  $E_H$ ), η οποία ορίζεται ως η σωρευτική ενέργεια που έχει επενδυθεί για την ανάπτυξη του οργανισμού, αποτελούν τις μεταβλητές κατάστασης, δηλαδή μεταβλητές που περιγράφουν ανά πάσα στιγμή την κατάσταση ενός δυναμικού συστήματος και που ορίζονται από τη DEB θεωρία. Με βάση ένα σύνολο φυσιολογικών κανόνων για την πρόσληψη τροφής από τους οργανισμούς και τη χρήση της για λειτουργίες που εξασφαλίζουν την επιβίωσή τους, μπορούν να περιγραφούν μαθηματικά οι διαδικασίες της σίτισης, της πέψης, της διατήρησης, της αύξησης, της ανάπτυξης, της αναπαραγωγής και της γήρανσης μέσω ροών ενέργειας (συμβολίζονται με ' $\dot{p}$ ') και μάζας (συμβολίζονται με 'j') με τις οποίες τα διάφορα οργανικά υποστρώματα, δηλαδή οργανικές ενώσεις που υποβάλλονται σε αλλαγές κατά τη διάρκεια αντιδράσεων, χρησιμοποιούνται από τον οργανισμό. Μια απλοποιημένη διαγραμματική απεικόνιση αυτων των διαδικασιών και των μεταβλητών κάταστασης που ορίζονται από τη DEB θεωρία παρέχονται στην Εικόνα 3-1.



Εικόνα 3-1 Διαγραμματική απεικόνιση των βασικών μεταβολικών διεργασιών (βέλη) και μεταβλητών κατάστασης (τετράγωνα) ενός τυπικού DEB μοντέλου.

*Figure 3-1 Schematic representation of the main metabolic processes (arrows) and state variables (rectangles) describing the standard DEB model.* 

Η πρόσληψη τροφής θεωρείται ότι είναι ανάλογη του μεγέθους του οργανισμού, ενώ συνδέεται με τη διαθεσιμότητα της στο περιβάλλον με μια σχέση λειτουργικής απόκρισης. Συγκεκριμένα, η λειτουργική απόκριση f αποτελεί μέτρο του ρυθμού σίτισης ενός ατόμου ως κλάσμα του μέγιστου ρυθμού για το εκάστοτε μέγεθος του ατόμου και συνεπώς λαμβάνει τιμές μεταξύ 0 και 1. Ως επακόλουθο, τόσο διαφορές στην ποσότητα τροφής που κατανώλεται αλλα και διαφορές στη χημική σύσταση της αντανακλώνται με αλλαγές στη λειτουργική απόκριση. Στη συνέχεια, η τροφή που έχει καταναλωθεί πέπτεται και η ενέργεια της γίνεται διαθέσιμη στον οργανισμό ο οποίος την αποθηκεύει στα αποθέματά του μέσω της διαδικασίας της αφομοίωσης (assimilation,  $\dot{p}_A$ ). Η επακόλουθη κινητοποίηση αυτής της ενέργειας (mobilization,  $\dot{p}_C$ ) επιτρέπει (α) την αύξηση του οργανισμού (growth,  $\dot{p}_G$ ) που είναι η αύξηση του δομικού όγκου, (β) τη σωματική διατήρηση (somatic maintenance,  $\dot{p}_{s}$ ) και τη διατήρηση της ωρίμανσης (maturity maintenance,  $\dot{p}_{I}$ ), δηλαδή τη συντήρηση των δομών που είναι απαραίτητες για επιβίωση, και (γ) την ωρίμανση (maturation) ή αναπαραγωγή (reproduction,  $\dot{p}_R$ ), που αντιστοιχεί σε περαιτέρω ενεργειακή επένδυση για γενετική ωρίμανση και παραγωγή γαμετών. Επιπλέον, ένα μέρος αυτής της ενέργειας διαχέεται στο περιβάλλον με τη μορφή θερμότητας (dissipation,  $\dot{p}_D$ ). Ένα σταθερό κλάσμα (κ) του κινητοποιημένου αποθέματος κατανέμεται σε σωματικές λειτουργίες, οι οποίες περιλαμβάνουν τη σωματική διατήρηση και αύξηση, ενώ το υπόλοιπο  $(1 - \kappa)$  χρησιμοποιείται

για την ωρίμανση ή την αναπαραγωγή (για ενήλικα άτομα), αφού όμως αφαιρεθούν τα ενεργειακά κόστη που σχετίζονται με την διατήρηση της ωρίμανσης. Ο Πίνακας 3-1 συνοψίζει τις μεταβλητές του τυπικού μοντέλου DEB (standard DEB) και τις μεταξύ τους σχέσεις (Kooijman, 2010).

Πίνακας 3-1 Οι μεταβλητές κατάστασης, ροές και δυναμικές του τυπικού μοντέλου DEB. Οι αγκύλες [] δηλώνουν ποσότητες εκφρασμένες ανά μονάδα όγκου και τα άγκιστρα {} ανά μονάδα επιφάνειας. Οι παράμετροι συνοψίζονται στον Πίνακα 3-2.

Table 3-1 The state variables, fluxes and dynamics of the standard DEB model. Square brackets [] indicate quantities expressed per unit of volume and curly brackets {} per unit of surface area. The model parameters are summarized in Table 3-2.

Μεταβλητές κατάστασης	
V, L	Δομικός όγκος, δομικό μήκος: $L=V^{1/3}$
E,[E]	Ενέργεια αποθέματος, Πυκνότητα αποθέματος: Ε / V
$E_H$	Ενεργειακή επένδυση σε ωρίμανση
$E_R$	Ενεργειακή επένδυση σε αναπαραγωγή
Ροές ενέργειας	
$\dot{p}_A$	Ρυθμός αφομοίωσης: ${\dot p}_{Am} f L^2$
<i>ṗ<sub>C</sub></i>	Ρυθμός κινητοποίησης αποθέματος: $L^3[E](\dot{\nu}/L - \dot{r})$ με $\dot{r} = \frac{\frac{\kappa[E]\dot{\nu}}{L} - \dot{r}_S}{[E_G] + [E]\kappa}$
$\dot{p}_{S}$	Ρυθμός σωματικής διατήρησης: $[\dot{p}_M]L^2+\{\dot{p}_T\}L^2$
₿ <sub>J</sub>	Ρυθμός διατήρησης ωρίμανσης: $k_J E_H$
$\dot{p}_{G}$	Ρυθμός αύξησης: κ $\dot{p}_{c}-\dot{p}_{s}$
$\dot{p}_R$	Ροή ενέργειας σε ωρίμανση/αναπαραγωγή: $(1-\kappa)\dot{p}_C-\dot{p}_J$
$\dot{p}_D$	Διάχυση: $\dot{p}_S + \dot{p}_J + (1 - \kappa_R)\dot{p}_R$
Δυναμική των μεταβλητών	ν κατάστασης
$rac{d}{dt}V=\dot{r}V$	
$\frac{d}{dt}[\mathbf{E}] = [\dot{p}_A] - [E]\dot{v}/L$	
$\frac{d}{dt}E_H = \dot{p}_R(E_H < E_H^p)$	

Το τυπικό μοντέλο DEB περιλαμβάνει τρία αναπτυξιακά στάδια (έμβρυο, ανήλικο άτομο, ενήλικο) και προϋποθέτει ισομορφική αύξηση σε όλα τα στάδια της ζωής. Η ισομορφία υποδηλώνει ότι το εμβαδόν της επιφάνειας είναι ανάλογο του δομικού όγκου εις την 2/3, γι' αυτό και τέτοιοι οργανισμοί συμβολίζονται επίσης ως μορφής V2/3. Ωστόσο, τα περισσότερα είδη που περιλαμβάνουν προνυμφικά στάδια παρουσιάζουν μεταβολική επιτάχυνση κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια, η οποία συχνά ακολουθείται από μορφολογική μεταμόρφωση (Kooijman,

 $\frac{d}{dt}E_R = \kappa_R \dot{p}_R (E_H \ge E_H^p)$ 

2014). Μεταβολική επιτάχυνση σημαίνει ότι για μια σύντομη αναπτυξιακή περίοδο, ένα ισόμορφο άτομο μεταβαίνει στον τρόπο λειτουργίας μορφής V1, που συνεπάγεται ότι η επιφάνεια του αυξάνεται αναλογικά με τον δομικό όγκο. Εκτεταμένα μοντέλα DEB που περιλαμβάνουν μορφές μεταβολικής επιτάχυνσης ταξινομούνται ως a-μοντέλα (Marques et al., 2019), ενώ συγκεκριμένα για μεταβολική επιτάχυνση μεταξύ γέννησης και μεταμόρφωσης, όπως συμβαίνει στα ψάρια, το μοντέλο ονομάζεται abj-μοντέλο. Η μεταβολική επιτάχυνση ερμηνεύει την παρατηρούμενη αλλαγή σχήματος και την εμπειρική παρατήρηση ότι το μήκος αυξάνεται περίπου εκθετικά με την ηλικία κατά το πρώιμο νεανικό στάδιο για τα περισσότερα είδη ψαριών. Γι' αυτό άλλωστε και abj-μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί για πληθώρα ψαριών (Augustine et al., 2011, Groenewald, 2021, Lika et al., 2014, Pecquerie et al., 2009, Stavrakidis-Zachou et al., 2018) και χρησιμοποιούνται επίσης στην παρούσα εργασία. Το DEB μοντέλο που χρησιμοποιείται εδώ για το λαβράκι και τον κρανιό θεωρεί πέντε στάδια στον κύκλο ζωής των ψαριών, συγκεκριμένα το εμβρυικό (έμβρυο), το προνυμφικό (λεκιθοφόρο ιχθύδιο), το νυμφικό (ατελές ιχθύδιο), το ανήλικο (νεαρό άτομο) και το ενήλικο (ώριμο άτομο). Η μετάβαση από το ένα στάδιο στο επόμενο συμβαίνει όταν η σωρευτική επένδυση σε ωρίμανση (Ε<sub>H</sub>) υπερβεί συγκεκριμένα ενεργειακά κατώφλια. Σημαντικές τέτοιες μεταβάσεις περιλαμβάνουν την εκκόλαψη ( $E_H^h$ ), τη γέννηση ( $E_H^b$ ), η οποία στην περίπτωση των ψαριών με προνυμφικά στάδια σηματοδοτεί την έναρξη της εξωγενούς σίτισης ('πρώτο τάισμα'), τη μεταμόρφωση  $(E_H^j)$ ως την ολοκλήρωσή της και, τέλος, την εφηβεία  $(E_H^p)$  που σηματοδοτεί την ενηλικίωση και την έναρξη της αναπαραγωγικής φάσης. Ο δομικός όγκος στα παραπάνω μεταβατικά στάδια συμβολίζεται ως  $V_h, V_b, V_j$ , και  $V_p$ , αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τις υποθέσεις του μοντέλου abj, μεταξύ γέννησης και μεταμόρφωσης το άτομο συμπεριφέρεται σαν μορφής V1. Δεδομένου ότι η V1 μορφή αφορά μόνο τη σχέση μεταξύ της επιφάνειας και του δομικού όγκου, οι αλλαγές στο σχήμα επηρεάζουν μόνο τον μέγιστο ρυθμό αφομοίωσης ενέργειας (ανά μονάδα επιφάνειας), { $\dot{p}_{Am}$ }, και ένα μέτρο της ταχύτητας με την οποία κινητοποιούνται τα ενεργειακά αποθέματα, την ενεργειακή αγωγιμότητα,  $\dot{v}$ , μέσω ενός συντελεστή επιτάχυνσης  $s_M$ . Ο συντελεστής επιτάχυσης χρησιμοποιείται για να μεταβάλει τις τιμές των { $\dot{p}_{Am}$ } και  $\dot{v}$  (ως  $s_M \{\dot{p}_{Am}\}$  και  $s_M \dot{v}$ ) κατά τα διάφορα αναπτυξιακά στάδια και ισούται με ένα για τα έμβρυα και τις προνύμφες,  $(V/V_b)^{1/3}$  για τις νύμφες, και  $(V_j/V_b)^{1/3}$  για τα ανήλικα και ενήλικα άτομα. Κατά συνέπεια, η δυναμική των μεταβλητών κατάστασης του Πίνακα 3-1 θα αλλάζει λόγω των ροών  $\dot{p}_A$  και  $\dot{p}_c$ .

Σύμβολο	Μονάδες	Περιγραφή
Βασικές παράμετροι		
$\{\dot{p}_{A_m}\}$	J cm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>	Μέγιστος ρυθμός αφομοίωσης
ΰ	$\mathrm{cm}\mathrm{d}^{-1}$	Ενεργειακή αγωγιμότητα
κ	-	Κλάσμα κατανομής σε σωματικές λειτουργίες
Ζ	-	Συντελεστής μεγέθυνσης
$\kappa_X$	-	Αποδοτικότητα αφομοίωσης τροφής σε αποθέματα
$\kappa_R$	-	Αναπαραγωγική αποδοτικότητα
$[\dot{p}_M]$	J cm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>	Ρυθμός σωματικής διατήρησης (ανά μονάδα όγκου)
$[E_G]$	J cm <sup>-3</sup>	Ειδικό κόστος δομικού όγκου
$E_H^h, E_H^b, E_H^j, E_H^p$	J	Κατώφλι ωρίμανσης στην εκκόλαψη, στη γέννηση, στη μεταμόρφωση, στην ενηλικίωση
<i>k</i> <sub>J</sub>	d <sup>-1</sup>	Συντελεστής ρυθμού διατήρησης ωρίμανσης
<i>̈́h</i> a	d-2	Weibull συντελεστής γήρανσης
Βοηθητικές παράμετροι		
$\delta_M$	-	Συντελεστής σχήματος
$T_A$	Κ	Θερμοκρασία Arrhenius
$T_H$	К	Το ανώτερο θερμικό όριο
$T_L$	К	Το κατώτερο θερμικό όριο
$T_{AH}$	Κ	Η θερμοκρασία Arrhenius για το ρυθμό μείωσης στο ανώτερο θερμικό όριο
$T_{AL}$	K	Η θερμοκρασία Arrhenius για το ρυθμό μείωσης στο κατώτερο θερμικό όριο
$\mu_*$	J mol <sup>-1</sup>	Χημικό δυναμικό του *
		* = Χ (τροφή), V (δομικός όγκος), Ε (αποθέματα)
<i>W</i> <sub>*</sub>	g mol <sup>-1</sup>	Μοριακό βάρος του *
		* = Χ (τροφή), V (δομικός όγκος), Ε (αποθέματα)
$d_*$	g cm <sup>-3</sup>	Ειδική πυκνότητα του *
		* = Χ (τροφή), V (δομικός όγκος), Ε (αποθέματα)
$n_{C*}, n_{H*}, n_{O*}, n_{N*}$	-	Χημικοί δείκτες στοιχείων (C,H,O,N) στα οργανικά υποστρώματα *

Πίνακας 3-2 Περιγραφή των βασικών και βοηθητικών παραμέτρων του μοντέλου. Table 3-2 Description of the core and auxiliary parameters of the model.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στο πλαίσιο της DEB η δομική βιομάζα και τα αποθέματα αποτελούν γενικευμένες χημικές ενώσεις σταθερής σύνθεσης. Το ίδιο ισχύει και για τις χημικές ενώσεις που απαρτίζουν την τροφή (X) και τις απεκκρίσεις (P). Η σύσταση μιας τέτοιας γενικευμένης ένωσης εκφράζεται ως η σχετική ως προς τον άνθρακα (C) αφθονία υδρογόνου (H), οξυγόνου (O) και αζώτου (N). Έτσι, ένα μόριο αποθέματος δίνεται από τον τύπο  $CHn_{OE}On_{HE}Nn_{NE}$ , όπου  $n_{*E}$  είναι οι χημικοί δείκτες για το κάθε στοιχείο (π.χ. το  $n_{NE}$  αντιπροσωπεύει τη μοριακή αναλογία N:C στο απόθεμα, E), ένα μόριο δομικής βιομάζας από τον τύπο τύπο  $CHn_{OV}On_{HV}Nn_{NV}$ , ενώ αντίστοιχα συμβολίζονται και οι τύποι για την τροφή (CH $n_{OX}On_{HX}Nn_{NX}$ ) και τις απεκκρίσεις (CH $n_{OP}On_{HP}Nn_{NP}$ ). Κάθε γενικευμένη ένωση έχει καθορισμένο χημικό δυναμικό  $\mu_*$ , ειδική πυκνότητα  $d_*$  και μοριακό βάρος  $w_*$ . Η περιγραφή όλων των βασικών και βοηθητικών παραμέτρων του μοντέλου συμπεριλαμβανομένων τόσο αυτών που αναφέρθηκαν παραπάνω όσο και αυτών που θα αναλυθούν σε επόμενες ενότητες (3.2.2, 3.2.3), δίνεται στον Πίνακα 3-2.

Παρότι μεταβλητές όπως ο δομικός όγκος και τα αποθέματα αποτελούν αφηρημένες έννοιες που δεν είναι άμεσα μετρήσιμες, συνδέονται με κοινώς μετρούμενα μεγέθη, όπως το μήκος και το βάρος. Συγκεκριμένα, το ολικό μήκος ( $L_w$ ) που είναι ένα από τα βασικά μετρούμενα μεγέθη στα ψάρια συνδέεται με το δομικό μήκος (L) μέσω της βοηθητικής παραμέτρου  $\delta_M$  (συντελεστής σχήματος) σύμφωνα με τη σχέση:  $L_w = \frac{L}{\delta_M}$ .

Επιπλέον, το νωπό βάρος (*W*<sub>w</sub>), μια από τις επίσης βασικές μετρήσιμες παραμέτρους στα ψάρια, αποτελείται από το άθροισμα της δομικής μάζας και των αποθεμάτων (συμπεριλαμβανομένου και του αναπαραγωγικού για τα ενήλικα άτομα) και υπολογίζεται από την Εξίσωση 3-1 (Kooijman 2010).

$$W_w = d_{Vw}V + (E + E_R)\frac{w_{Ew}}{\mu_E} \qquad E\xi i\sigma\omega\sigma\eta \,3-1$$

Οι ροές των σύνθετων οργανικών (τροφή, των απεκκρίσεις, αποθέματα, δομική βιομάζα), αλλά και ανόργανων (π.χ. CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, αζωτούχες απεκκρίσεις) ενώσεων, μπορούν να γραφτούν ως το σταθμισμένο άθροισμα τριών βασικών ροών, της αφομοίωσης ( $\dot{p}_A$ ), της διάχυσης ( $\dot{p}_D$ ), και της αύξησης ( $\dot{p}_G$ ) (Kooijman 2010). Η διάχυση δεν περιλαμβάνει τα γενικά ενεργειακά κόστη αφομοίωσης και αύξησης και ανέρχεται σε  $\dot{p}_D = \dot{p}_S + \dot{p}_J + (1 - \kappa_R)\dot{p}_R$  στο ενήλικο στάδιο και σε  $\dot{p}_D = \dot{p}_S + \dot{p}_J + \dot{p}_R$  σε μη αναπαραγωγικά στάδια. Για τα μη αναπαραγωγικά στάδια, η

ενέργεια που επενδύεται στην ωρίμανση  $(p_R)$  αποβάλλεται στο περιβάλλον με τη μορφή θερμότητας και μεταβολιτών και δεν συμβάλλει στο συνολικό βάρος.

Σχετικά με τον ρυθμό πρόσληψης τροφής ( $\dot{J}_X$ , g d<sup>-1</sup>), αυτός υπολογίζεται ως εξής (Kooijman, 2010):

$$\dot{J}_X = \frac{w_{Xd}}{\kappa_X \mu_X} \dot{p}_A \qquad \qquad E \xi i \sigma \omega \sigma \eta \ 3-2$$

όπου  $w_{Xd}$  είναι το μοριακό βάρος της ξηρής τροφής,  $\mu_X$  το χημικό δυναμικό της, και  $\kappa_X$  ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής σε απόθεμα. Η Εξίσωση 3-2 δίνει το ρυθμό κατανάλωσης τροφής θεωρώντας ότι η τροφή είναι πλήρως αφυδατωμένη. Για μετατροπή της σε νωπή, ο ρυθμός  $\dot{J}_X$  πρέπει να πολλαπλασιαστεί με τον όρο  $\frac{d_{Xw}}{d_{Xd}}$ , όπου  $d_{Xd}$  είναι η ειδική πυκνότητα της ξηρής τροφής (g cm<sup>-3</sup>) και  $d_{Xw}$  της νωπής. Τέλος, οι ρυθμοί κατανάλωσης οξυγόνου ( $\dot{J}_O$ ) και παραγωγής αζωτούχων απεκκρίσεων ( $\dot{J}_{NH}$ ) προκύπτουν από τις τρεις βασικές ροές (αφομοίωση, διάχυση, αύξηση) και δίνονται από τις παρακάτω εξισώσεις:

$$\begin{split} \dot{J}_{O} &= \eta_{OA} \dot{p}_{A} + \eta_{OD} \dot{p}_{D} + \eta_{OG} \dot{p}_{G} & E \xi i \sigma \omega \sigma \eta \ 3-3 \\ \dot{J}_{NH} &= \eta_{NA} \dot{p}_{A} + \eta_{ND} \dot{p}_{D} + \eta_{NG} \dot{p}_{G} & E \xi i \sigma \omega \sigma \eta \ 3-4 \end{split}$$

Οι συντελεστές βαρύτητας  $\eta_{*A}$ ,  $\eta_{*D}$ ,  $\eta_{*G}$  προκύπτουν από το ισοζύγιο μάζας και είναι συναρτήσεις βασικών παραμέτρων του μοντέλου (Kooijman, 2010).

### 3.2.2 Επίδραση της θερμοκρασίας

Οι μεταβολικές διεργασίες των οργανισμών καταλύονται από ένζυμα και συνεπώς εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Στα πλαίσια της DEB θεωρίας η επίδραση της θερμοκρασίας ποσοτικοποιείται από την εξίσωση Arrhenius η οποία χρησιμοποιεί την ειδο-ειδική παράμετρο T<sub>A</sub> (θερμοκρασία Arrhenius). Σύμφωνα με αυτή, και για ένα ειδο-ειδικό θερμοκρασιακό εύρος, ο ρυθμός μια φυσιολογικής διεργασίας  $\dot{k}$  στη θερμοκρασία T δίνεται ως (Εξίσωση 3-5):

$$\dot{k}(T) = \dot{k}_{ref} \exp\left(\frac{T_A}{T_{ref}} - \frac{T_A}{T}\right) \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-5$$

όπου  $\dot{k}_{ref}$  είναι ο ρυθμός σε μια επιλεγμένη θερμοκρασία αναφοράς ( $T_{ref}$ ).

Η παραπάνω διατύπωση του Arrhenius βασίζεται στην εξίσωση van't Hoff για τον συντελεστή θερμοκρασίας της σταθεράς ισορροπίας και ισοδυναμεί με  $\dot{k}(T) = \dot{k}_{\infty} \exp\left(-\frac{E_{\alpha}}{RT}\right)$ , όπου το  $\dot{k}_{\infty}$ είναι γνωστό ως ο παράγοντας συχνότητας, Rείναι η παγκόσμια σταθερά των αερίων (8.3144 J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>), και  $E_{\alpha}$  είναι η ενέργεια ενεργοποίησης μιας αντίδρασης (Lloyd & Taylor, 1994). Η διατύπωση της εξίσωσης van't Hoff βασίζεται στο νόμο δράσης των μαζών (law of mass action) σύμφωνα με τον οποίο η ταχύτητα μιας αντίδρασης είναι ανάλογη προς τις δρώσες μάζες των αντιδρώντων ουσιών. Όσον αφορά τον όρο ' $\exp\left(-\frac{E_{\alpha}}{RT}\right)$ ', είναι γνωστός ως ο παράγοντας Boltzmann και αντιπροσωπεύει το κλάσμα των αντιδρώντων μορίων που επιτυγχάνουν την κρίσιμη ενέργει<br/>α $E_{\alpha}$ ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Φυσικά, αυτές οι εξισώσεις αφορούν μεμονωμένες αντιδράσεις μεταξύ μορίων σε αέρια φάση και, συνεπώς, η χρήση τους για την περιγραφή των μεταβολικών ρυθμών στο επίπεδο του οργανισμού όπου αλληλεπιδρούν πολλών τύπων οργανικά υποστρώματα ίσως αποτελεί μια απλούστευση. Για παράδειγμα, οι διάφορες μεταβολικές διεργασίες ενός οργανισμού θα μπορούσαν θεωρητικά να εξαρτώνται με διαφορετικό τρόπο από τη θερμοκρασία, κάτι που θα έκανε τη χρήση της παραπάνω προσέγγισης ιδιαίτερα δύσχρηστη. Ωστόσο, αν αυτό ίσχυε, τα κύτταρα και κατ' επέκταση οι ίδιοι οι οργανισμοί θα δυσκολεύονταν να συντονίσουν τις επιμέρους λειτουργίες τους κάτω από θερμοκρασιακά δυναμικά περιβάλλοντα. Η ουσία του μεταβολισμού είναι η μετατροπή χημικών ενώσεων από μια μορφή σε μια άλλη με τον πιο αποδοτικό τρόπο και γι' αυτό οι οργανισμοί έχουν εξελίξει βιοχημικούς μηχανισμούς που λειτουργούν με τη μέγιστη αποδοτικότητα ανεξαρτήτως των θερμοκρασιακών εναλλαγών. Κατά συνέπεια, η παραδοχή ότι όλοι οι μεταβολικοί ρυθμοί ενός οργανισμού εξαρτώνται με τον ίδιο τρόπο από την θερμοκρασία, ο οποίος μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά από την εξίσωση Arrhenius, φαίνεται ότι αποτελεί μια αρκετά ρεαλιστική προσέγγιση με ευρεία εφαρμογή στη βιολογία (Crapse, 2021, Jantarakasem et al., 2020, Murphy & Stinziano, 2021, Singh, 2022).

Ένας από του πιο διαδεδομένους τρόπους ποσοτικοποίησης των επιδράσεων της θερμοκρασίας στη φυσιολογία και ειδικότερα στη φυσιολογία ψαριών είναι με χρήση των συντελεστών van't Hoff που εκφράζονται ως τιμές  $Q_{10}$ . Συγκεκριμένα, η τιμή  $Q_{10}$  αντιπροσωπεύει τον παράγοντα που θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με τον μεταβολικό ρυθμό σε μια γνωστή θερμοκρασία για να περιγράψει την μεταβολή του για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10 °C, δηλαδή:  $\dot{k}(T) = \dot{k}(T_{ref})Q_{10}^{(T-T_{ref})/10}$  (Lloyd & Taylor, 1994) και συνεπώς, από την Εξίσωση 3-5 προκύπτει ότι η σχέση της με τη θερμοκρασία Arrhenius είναι  $Q_{10} = \exp(\frac{10T_A}{T(T+10)})$ (Kooijman, 2010). Μάλιστα, επειδή οι θερμοκρασίες για τις οποίες μια τέτοια θερμοκρασιακή διόρθωση έχει βιολογική σημασία περιορίζονται σε ένα μικρό εύρος 0 - 40 °C, οι δύο παραπάνω προσεγγίσεις είναι πρακτικά πανομοιότυπες. Έτσι, με βάση την Εξίσωση 3-5, θα χρησιμοποιηθεί εδώ ο διορθωτικός παράγοντας θερμοκρασίας  $s_A(T)$  (Εξίσωση 3-6),

$$s_A(T) = \frac{\dot{k}(T)}{\dot{k}(T_{ref})} = \exp\left(\frac{T_A}{T_{ref}} - \frac{T_A}{T}\right) \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-6$$

που θα απεικονίζει τη μεταβολή του ρυθμού στη θερμοκρασία T σε σχέση με τη θερμοκρασία αναφοράς  $T_{ref}$  (εδώ  $T_{ref} = 293$  °K). Βάσει ορισμού, ο παράγοντας αυτός ικανοποιεί τη συνθήκη  $s_A(T_{ref}) = 1.$ 

Καθώς η θερμοκρασία προσεγγίζει τα όρια ανοχής, οι βιολογικοί ρυθμοί προοδευτικά ελαττώνονται και τελικά μηδενίζονται με τον θάνατο του οργανισμού. Βασισμένοι στην παραδοχή ότι η τεταρτοταγής δομή των ενζύμων που καταλύουν τις κυτταρικές αντιδράσεις μπορεί να μεταπέσει σε ανενεργή μορφή κάτω από πολύ υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες, οι Sharpe και DeMichele, 1977 διατύπωσαν μια εκτεταμένη μορφή της εξίσωσης Arrhenius για να περιγράψουν την ελάττωση των μεταβολικών ρυθμών στα άκρα του εύρους ανοχής. Σύμφωνα με αυτή, οι διάφοροι φυσιολογικοί ρυθμοί μειώνονται εκατέρωθεν του θερμοκρασιακού εύρους, επειδή αυτά τα ένζυμα σταδιακά απενεργοποιούνται κάτω από ακραίες θερμοκρασιακές συνθήκες σε μια διαδικασία που είναι όμως αντιστρεπτή όταν ο οργανισμός απομακρυνθεί από αυτές τις θερμοκρασίες. Οι θερμοκρασίες πέραν των οποίων συμβαίνει αυτό συμβολίζονται με  $T_L$  και  $T_H$  για το κάτω και άνω όριο του θερμοκρασίες, ποσοτικοποιείται με πολλαπλασιασμό του βιολογικού ρυθμών σε χαμηλές και υψηλές θερμοκρασίες, ποσοτικοποιείται με πολλαπλασιασμό του βιολογικού ρυθμού με το κλάσμα του ενζύμου που παραμένει σε ενεργή κατάσταση σε θερμοκρασία T.

Συγκεκριμένα, για θερμοκρασιακή διόρθωση σε χαμηλές θερμοκρασίες το κλάσμα είναι  $\frac{s_L(T)}{s_L(T_{ref})}$  με  $s_L(T) = \left(1 + \exp\left(\frac{T_{AL}}{T} - \frac{T_{AL}}{T_L}\right)\right)^{-1}$ , ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες είναι  $\frac{s_H(T)}{s_H(T_{ref})}$  με  $s_H(T) = \left(1 + \exp\left(\frac{T_{AH}}{T_H} - \frac{T_{AH}}{T}\right)\right)^{-1}$ , όπου οι όροι  $T_{AL}$  και  $T_{AH}$  είναι οι ειδο - ειδικές θερμοκρασίες

Arrhenius για το ρυθμό μείωσης στα  $T_L$  και  $T_H$ , αντίστοιχα (Sharpe & DeMichele, 1977). Κατά συνέπεια, για διόρθωση σε όλο το θερμοκρασιακό εύρος, το κλάσμα γίνεται  $\frac{s_{LH}(T)}{s_{LH}(T_{ref})}$  με το  $s_{LH}(T)$  να δίνεται από την Εξίσωση 3-7, ενώ σημειώνεται ότι ο δείκτης '+' υποδεικνύει ότι οι όροι exp $\left(\frac{T_{AL}}{T} - \frac{T_{AL}}{T_L}\right)$  και exp $\left(\frac{T_{AH}}{T_H} - \frac{T_{AH}}{T}\right)$  εφαρμόζονται για  $T < T_{ref}$  και  $T > T_{ref}$  αντίστοιχα.

$$s_{LH}(T) = \left(1 + \exp\left(\frac{T_{AL}}{T} - \frac{T_{AL}}{T_L}\right)_+ + \exp\left(\frac{T_{AH}}{T_H} - \frac{T_{AH}}{T}\right)_+\right)^{-1} \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta 3-7$$

Ενδεικτικά, ένα παράδειγμα της τυπικής καμπύλης Arrhenius που περιλαμβάνει τόσο τη γραμμική περιοχή, δηλαδή το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο εφαρμόζεται η κλασική μορφή της εξίσωσης,όσο και τη μείωση της βιολογικής επίδοσης περαν των T<sub>L</sub> και T<sub>H</sub> δινεται στην Εικόνα 3-2.



Εικόνα 3-2 Παράδειγμα καμπύλης Arrhenius: η βιολογική επίδοση αυζάνεται εκθετικά με τη θερμοκρασία για ένα ειδοειδικό θερμοκρασιακό εύρος το οποίο ορίζει τη 'γραμμική περιοχή' της εξίσωςης (σκιασμένη ζώνη) ενώ μειώνεται πέρα των των θερμοκρασιών T<sub>L</sub> και T<sub>H</sub>.

Figure 3-2 Arrhenius curve example: the biological performance increases exponentially with temperature for a species-specific temperature range denoted as the 'lineral region' of the equation (shaded area) while it decreases beyond the temperatures  $T_L$  and  $T_H$ .

## 3.2.3 Προσδιορισμός σωματικής σύστασης

Η σωματική σύσταση ενός ψαριού περιγράφεται κυρίως από τα ποσοστά του νερού ('υγρασία'), των πρωτεϊνών και των λιπών που περιέχει, των οποίων το άθροισμα καταλαμβάνει περίπου το 95% της μάζας του (Breck, 2014, Silva et al., 2015). Το υπόλοιπο ποσοστό αφορά κυρίως συνεισφορές ανόργανων συστατικών που αναφέρονται ως τέφρα, καθώς και μικρές ποσότητες υδατανθράκων, κυρίως γλυκογόνου. Δεδομένης της μικρής συμμετοχής των ανόργανων συστατικών και των υδατανθράκων, στο παρόν μοντέλο θα επικεντρωθούμε στα κύρια μακρομόρια κάνοντας την παραδοχή ότι η δομική βιομάζα και τα αποθέματα απαρτίζονται αποκλειστικά από νερό, πρωτεΐνες και λίπη.

Όπως περιεγράφηκε και στην ενότητα 3.2.1, η συνολική βιομάζα απαρτίζεται από αποθέματα και δομική βιομάζα που είναι γενικευμένες ενώσεις, δηλαδή σύνθετα μείγματα χημικών ενώσεων των οποίων η χημική σύσταση δεν μεταβάλλεται. Η σταθερότητα της χημικής τους σύστασης είναι μία από τις κεντρικές παραδοχές της θεωρίας DEB και ονομάζεται 'ισχυρή ομοιόσταση' (Kooijman, 2010). Θεωρητικά μπορούν να οριστούν πολλοί τύποι αποθεμάτων και δομικής βιομάζας για να περιγράψουν πολύπλοκα βιολογικά συστήματα σε μεγάλη λεπτομέρεια. Ωστόσο, στα ζώα, η επιλογή ενός μόνο αποθέματος και μίας δομικής βιομάζας φαίνεται πως ερμηνεύει επαρκώς τη δυναμική των κύριων στοιχείων (C, H, O, N) στο σώμα τους και κατ' επέκταση μεταβολές στη χημική σύσταση της βιομάζας τους. Αυτό οφείλεται στο ότι οι ποσότητες των αποθεμάτων και δομικής βιομάζας σε έναν οργανισμό μπορεί να μεταβάλλονται ανάλογα με το ισοζύγιο ενέργειας που προσλαμβάνεται και καταναλώνεται. Συνεπώς, παρά τη σταθερότητα της χημικής τους σύστασης, η σχετική συνεισφορά τους στη συνολική βιομάζα ενός οργανισμού μπορεί να αλλάζει, οδηγώντας έτσι σε μεταβολές στη συνολική σωματική σύσταση.

Για απλοποίηση των υπολογισμών, θεωρούμε ψάρια που δεν έχουν φτάσει ακόμα την ενηλικίωση και συνεπώς δεν αναπαράγονται, συνθήκη που ικανοποιείται για ψάρια σε εκτροφή. Εφόσον δεν υπάρχει αναπαραγωγικό απόθεμα, η συνολική βιομάζα τους (*M*) σε mol είναι εξορισμού, βάσει της DEB θεωρίας, το άθροισμα της δομικής βιομάζας (*M<sub>V</sub>*) και των αποθεμάτων (*M<sub>E</sub>*) (Εξίσωση 3-8). Σημειώνεται επιπλέον ότι τα *M<sub>V</sub>* και *M<sub>E</sub>*, που αποτελούν αφηρημένες ποσότητες, συνδέονται με το δομικό όγκο ως *M<sub>V</sub>* = [*M<sub>V</sub>*]*V* και *M<sub>E</sub>* = [*M<sub>E</sub>*]*V* όπου [*M<sub>V</sub>*] και [*M<sub>E</sub>*] είναι αντίστοιχα η δομική και αποθεματική βιομάζα ανά μονάδα όγκου (mol cm<sup>-3</sup>).

$$M = M_V + M_E \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-8$$

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της βιομάζας είναι ότι το μεγαλύτερο μέρος της καταλαμβάνεται από νερό σε ποσοστό μάλιστα που για τα ζώα κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 70-90% (Breck, 2014). Επειδή το βιοενεργητικό πλαίσιο της DEB βασίζεται σε ισοζύγια ενέργειας και μάζας μπορούμε να προσδιορίσουμε αυτή την υδάτινη μάζα των οργανισμών αντιμετωπίζοντάς την σαν ένα οποιοδήποτε άλλο συστατικό της βιομάζας κατά τη μαθηματική της περιγραφή. Έτσι, η συνολική βιομάζα μπορεί να εκφραστεί είτε ως νωπή βιομάζα εάν συμπεριλαμβάνει και τη μάζα του νερού, είτε ως ξηρή βιομάζα εάν από τους υπολογισμούς αφαιρεθεί το νερό. Για τον υπολογισμό λοιπόν του νωπού και ξηρού βάρους, τα  $M_V$  και  $M_E$  θα πρέπει να πολλαπλασιαστούν με τα αντίστοιχα μοριακά βάρη, συγκεκριμένα με τους συντελεστές  $(w_{*w})$  για το νωπό και  $(w_{*d})$  για το ξηρό βάρους όπου το σύμβολο «\*» αναφέρεται είτε στη δομική βιομάζα είτε στα αποθέματα. Βάσει αυτών, το νωπό και ξηρό βάρος περιγράφονται μέσω της Εξίσωσης 3-8 ως:

$$W_w = w_{Vw} M_V + w_{Ew} M_E \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-9$$

$$W_d = w_{Vd}M_V + w_{Ed}M_E \qquad E\xi i\sigma\omega\sigma\eta \, 3-10$$

Προκύπτει λοιπόν ότι αν τα διάφορα μοριακά βάρη για τη δομική βιομάζα και τα αποθέματα είναι γνωστά τότε μπορεί να υπολογιστεί το περιεχόμενο σε νερό ενός ψαριού. Αυτό γίνεται ως η διαφορά μεταξύ νωπού και ξηρού βάρους σύμφωνα με την Εξίσωση 3-11 και στη συνέχεια, σε συνδυασμό με την Εξίσωση 3-9, μπορεί να εκφραστεί ως κλάσμα του συνολικού βάρους, δηλαδή ως *W<sub>H</sub>/W<sub>w</sub>*.

$$W_{H} = W_{w} - W_{d} = w_{Vw}M_{V} + w_{Ew}M_{E} - w_{Vd}M_{V} - w_{Ed}M_{E}$$
  
=  $M_{V}(w_{Vw} - w_{Vd}) + M_{E}(w_{Ew} - w_{Ed})$ 

Η δομική βιομάζα και τα αποθέματα χαρακτηρίζονται επίσης από την ειδική πυκνότητα  $d_*$  που εκφράζει το λόγο της μάζας τους ανά μονάδα όγκου (g cm<sup>-3</sup>). Έτσι ορίζονται για τη νωπή βιομάζα οι ειδικές πυκνότητες  $d_{Vw}$  και  $d_{Ew}$  και για την ξηρή οι  $d_{Vd}$  και  $d_{Ed}$  για τις οποίες ισχύουν οι ισότητες  $\frac{w_{Vd}}{w_{Vw}} = \frac{d_{Vd}}{d_{Vw}}$  και  $\frac{w_{Ed}}{w_{Ew}} = \frac{d_{Ed}}{d_{Ew}}$  (Kooijman, 2010).

Η ειδική πυκνότητα του νερού είναι 1 g cm<sup>-3</sup>, ενώ προσεγγιστικά θεωρείται ότι και η ειδική πυκνότητα της νωπής βιομάζας ισούται με αυτή του νερού, δηλαδή  $d_{Vw} = d_{Ew} = 1$  g cm<sup>-3</sup>. Όσον αφορά στα μοριακά βάρη της ξηρής δομικής βιομάζας και των αποθεμάτων, αυτά υπολογίζονται από τους χημικούς δείκτες τους για τα τέσσερα βασικά στοιχεία ( $n_{OV}$ ,  $n_{HV}$ ,  $n_{NV}$  για τη δομική βιομάζα,  $n_{OE}$ ,  $n_{HE}$ ,  $n_{NE}$  για τα αποθέματα, και  $n_{CV} = n_{CE} = 1$  εξ' ορισμού) ως (Kooijman, 2010):

$$w_{Vd} = 12 + n_{HV} + 16n_{OV} + 14n_{NV}$$
 Eξίσωση 3-12

$$w_{Ed} = 12 + n_{HE} + 16n_{OE} + 14n_{NE}$$
 Ečíowon 3-13

Οι παραπάνω εξισώσεις χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση των  $d_{Vd}$  και  $d_{Ed}$  που απαιτούνται για τον υπολογισμό του περιεχομένου της βιομάζας σε υγρασία.

Χρησιμοποιώντας μια παρόμοια προσέγγιση, μπορούμε να περιγράψουμε οποιοδήποτε άλλο συστατικό της βιομάζας ως κλάσμα του συνολικού βάρους. Έστω λοιπόν ότι A είναι κάποιο συστατικό της βιομάζας, όπως πρωτεΐνες, λίπη ή υδατάνθρακες και  $M_A$  η ποσότητά του στον οργανισμό εκφρασμένη συγκριτικά με αυτή του μορίου του άνθρακα (C-mol). Ανά πάσα στιγμή, κατά αντιστοιχία με την Εξίσωση 3-8, η συνολική ποσότητα  $M_A$  στον οργανισμό θα είναι ίση με το άθροισμα του συστατικού στη δομική βιομάζα και στα αποθέματα (Εξίσωση 3-14).

$$M_A = M_{AV} + M_{AE}$$
Εζίσωση 3-14

Κάνουμε επίσης την παραδοχή ότι το *A* είναι μια γενικευμένη ένωση και συνεπώς θα έχει σταθερή σύσταση είτε βρίσκεται στη δομική βιομάζα είτε στα αποθέματα. Πρακτικά αυτό σημαίνει πως απαντώνται οι ίδιοι 'τύποι' γενικών ζωικών πρωτεϊνών και λιπών σε ολόκληρο το σώμα του οργανισμού. Θεωρώντας *w<sub>A</sub>* το μοριακό βάρος του *A*, προκύπτει από την Εξίσωση 3-14 ότι το βάρος του θα υπολογίζεται βάσει της Εξίσωσης 3-15. Διευκρινίζεται επίσης ότι επειδή στο εν λόγω μοντέλο το *A* αναφέρεται σε πρωτεΐνες ή λίπη που είναι σε άνυδρες μορφές, δεν έχει νόημα να ορίσουμε ξεχωριστά μοριακά βάρη για 'νωπό' και 'ξηρό' *A*. Ωστόσο, πιθανή επέκταση του μοντέλου για υπολογισμό άλλων ουσιών ίσως απαιτήσει έναν τέτοιο διαχωρισμό.

$$W_A = w_A M_{AV} + w_A M_{AE} \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-15$$

Στη συνέχεια, το κλάσμα του βάρους ( $W_A$ ) της ουσίας A στο συνολικό βάρος του ψαριού ορίζεται ως  $\frac{W_A}{W_w}$  και  $\frac{W_A}{W_d}$  για το νωπό και ξηρό βάρος αντίστοιχα. Αναλύοντας περαιτέρω το συλλογισμό για το ξηρό βάρος, από τις τις Εξισώσεις 3-10 και 3-15 έχουμε:

$$\frac{W_A}{W_d} = \frac{w_A(M_{AV} + M_{AE})}{w_{Vd}M_V + w_{Ed}M_E}$$
 Eξίσωση 3-16

Πολλαπλασιάζοντας και τα δύο μέλη της Εξίσωσης 3-16 με το γινόμενο  $M_V M_E$ , προκύπτει η Εξίσωση 3-17.

$$\frac{W_A}{W_d} = \frac{M_V M_E w_A (M_{AV} + M_{AE})}{M_V M_E (w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E)} E\xi i \sigma \omega \sigma \eta^{3-17}$$

$$= \frac{M_V M_E w_A M_{AV}}{M_V M_E (w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E)} + \frac{M_V M_E w_A M_{AE}}{M_V M_E (w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E)}$$

$$= \frac{M_{AV}}{M_V} \frac{M_V w_A}{(w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E)} + \frac{M_{AE}}{M_E} \frac{M_E w_A}{(w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E)}$$

$$= \frac{w_A}{w_{Vd} M_V + w_{Ed} M_E} \left(\frac{M_{AV}}{M_V} M_V + \frac{M_{AE}}{M_E} M_E\right)$$

Οι όροι  $\frac{M_{AV}}{M_V}$  και  $\frac{M_{AE}}{M_E}$  αναφέρονται στην πυκνότητα του συστατικού A, δηλαδή στην ποσότητά του σε mol σε σχέση με τη δομική βιομάζα ( $m_{AV} = \frac{M_{AV}}{M_V}$ ) και τα αποθέματα ( $m_{AE} = \frac{M_{AE}}{M_E}$ ). Εξ ορισμού, εφόσον τα V και E έχουν σταθερή σύσταση, η πυκνότητα του A θα είναι επίσης σταθερή και μπορεί να υπολογιστεί για γνωστή σύσταση των V και E. Μετατρέποντας αυτές τις πυκνότητες σε γραμμάρια πολλαπλασιάζοντας με τα αντίστοιχα μοριακά βάρη προκύπτουν οι πιο εύληπτοι όροι  $\theta_{AV} = \frac{w_A M_{AV}}{w_{Vd} M_V}$  και  $\theta_{AE} = \frac{w_A M_{AE}}{w_{Ed} M_E}$  που εκφράζουν το κλάσμα της ουσίας A στο βάρος των V και E, στη μορφή, δηλαδή, που χρησιμοποιείται στις μελέτες σωματικής σύστασης στα ψάρια.

Η μαθηματική περιγραφή της σωματικής σύστασης στα ψάρια ενσωματώνει υπολογισμούς για τα ποσοστά υγρασίας, πρωτεϊνών και λιπών στη συνολική βιομάζα. Μιας και η προσέγγιση για την εκτίμηση της υγρασίας έχει ήδη περιγραφεί, επικεντρωνόμαστε στη συνέχεια στον υπολογισμό των ποσοστών πρωτεϊνών και λιπών. Κατά αντιστοιχία με τα παραπάνω, για τις πρωτεΐνες (*Pr*), ορίζονται το μοριακό βάρος των πρωτεϊνών *w*<sub>Pr</sub>, η πυκνότητά τους στη δομική

βιομάζα  $(m_{PrV})$ , η πυκνότητά τους στα αποθέματα  $(m_{PrV})$ , το κλάσμα του βάρους τους στη δομική βιομάζα  $\theta_{PrV} = \frac{w_{Pr} M_{PrV}}{w_{Vd} M_V}$ , και το κλάσμα του βάρους τους στα αποθέματα  $\theta_{PrE} = \frac{w_{Pr} M_{PrE}}{w_{Ed} M_E}$ . Αντίστοιχα για τα λίπη (L), ορίζονται τα  $w_L$ ,  $m_{LV}$ ,  $m_{LV}$ ,  $\theta_{LV} = \frac{w_L M_{LV}}{w_{Vd} M_V}$  και  $\theta_{LE} = \frac{w_L M_{LE}}{w_{Ed} M_E}$ . Ισχύουν δε, οι εξ ορισμού φυσικοί περιορισμοί  $\theta_{PrV} + \theta_{LV} = 1$  και  $\theta_{PrE} + \theta_{LE} = 1$ .

Για τον υπολογισμό των παραπάνω μοριακών βαρών χρησιμοποιούμε τις εξισώσεις για τυπικά ζωικά λίπη και πρωτεΐνες (Kooijman, 2010, Torabizadeh, 2011). Με αυτήν την παραδοχή, ο γενικευμένος τύπος σε C-mol για τις πρωτεΐνες είναι  $CH_{1.61}O_{0.33}N_{0.48}$  και για τα λίπη  $CH_{1.92}O_{0.12}$  και επομένως το μοριακό βάρος των πρωτεΐνών υπολογίζεται σε  $w_{Pr} = 25,61$  g mol<sup>-1</sup> και των λιπών σε  $w_{Pr} = 15,84$  g mol<sup>-1</sup>. Η ενεργειακή απόδοση δε των τυπικών ζωικών μακρομορίων ανέρχεται σε 23,6 kj g<sup>-1</sup> για τις πρωτεΐνες και 39 kj g<sup>-1</sup> για τα λίπη (Schrama et al., 2018), τα οποία πολλαπλασιασμένα με τα αντίστοιχα μοριακά βάρη δίνουν το χημικό δυναμικό των πρωτεϊνών ( $\mu_{Pr}$ ) και λιπών ( $\mu_L$ ) (μονάδες j mol<sup>-1</sup>).

Βάσει αυτών, το χημικό δυναμικό της δομικής μάζας (μ<sub>V</sub>) και των αποθεμάτων (μ<sub>E</sub>) περιγράφεται από το άθροισμα της ενέργειας των πρωτεϊνών και λιπών που απαρτίζουν ένα mol δομικής μάζας και αποθεμάτων αντίστοιχα, και άρα ορίζεται από τις Εξισώσεις 3-18, 3-19.

$$\mu_V = \mu_{Pr} m_{PrV} + \mu_L m_{LV} \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \, 3-18$$

$$\mu_E = \mu_{Pr} m_{PrE} + \mu_L m_{LE} \qquad E \xi i \sigma \omega \sigma \eta 3-19$$

Οι παραπάνω παράγραφοι περιγράφουν τη θεωρητική αποδόμηση της βιομάζας ενός ψαριού σε τρία κύρια συστατικά, την υγρασία, τις πρωτεΐνες και τα λίπη. Οι διάφοροι συντελεστές που αναφέρθηκαν, όπως τα μοριακά βάρη, οι ειδικές πυκνότητες και τα χημικά δυναμικά, είναι παράμετροι που μπορούν να εκτιμηθούν από πειραματικά δεδομένα, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.2.4. Σημειώνεται ότι για αυτό απαιτούνται δεδομένα κάτω από διαφορετικά τροφικά επίπεδα, ενώ είναι ιδιαίτερα χρήσιμες οι μετρήσεις υπό συνθήκες ασιτίας, καθώς παρέχουν πληροφορίες για την πυκνότητα των αποθεμάτων.

### 3.2.4 Εκτίμηση παραμέτρων

Η διαδικασία εκτίμησης των DEB παραμέτρων περιγράφεται εκτενώς στο άρθρο των Marques et al. (2019) αλλά και στο εγχειρίδιο της διαδικτυακής πλατφόρμας της DEB θεωρίας Add-My-Pet<sup>4</sup>, και βασίζεται στην ταυτόχρονη εκτίμηση όλων των παραμέτρων από ένα σύνολο δεδομένων που σχετίζονται με τη φυσιολογία, τη μορφολογία, και τον κύκλο ζωής των ειδών. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Simplex Nead-Melder και φίλτρα που εμποδίζουν τις παραμέτρους να πάρουν τιμές εκτός των φυσικώς επιτρεπόμενων ορίων. Η μέθοδος βασίζεται στην ελαχιστοποίηση του σφάλματος της συνάρτησης:

$$F = \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=1}^{n_i} w_{ij} \frac{(d_{ij} - p_{ij})^2}{d_i^2 + p_i^2}$$
 Eξίσωση 3-20

όπου *n* είναι ο αριθμός των διαφορετικών σετ δεδομένων,  $n_i$  ο αριθμός των σημείων σε κάθε σετ *i*,  $w_{ij}$  είναι συντελεστές βαρύτητας,  $d_{ij}$  είναι οι τιμές των δεδομένων,  $p_{ij}$  είναι οι τιμές των προβλέψεων,  $d_i = n_i^{-1} \sum_{j=1}^{ni} d_{ij}$  είναι η μέση τιμή του σετ δεδομένων *i* και  $p_i = n_i^{-1} \sum_{j=1}^{ni} p_{ij}$  είναι η μέση τιμή των προβλεπόμενων τιμών για το σετ δεδομένων *i* (Marques et al., 2019).

Επίσης, η προσαρμογή των δεδομένων (goodness of fit) ποσοτικοποιήθηκε με το μέσο σχετικό σφάλμα (Mean Relative Error, MRE) και το συμμετρικό μέσο τετραγωνικό σφάλμα (Symmetric Mean Squared Error, SMSE). Σύμφωνα με τους (Marques et al., 2019), για τον προσδιορισμό του MRE αρχικά υπολογίστηκε το σχετικό σφάλμα (Relative Error, RE) για κάθε σετ δεδομένων *i*, ως  $RE_i = \sum_{j=1}^{n_i} \frac{w_{ij} |p_{ij} - d_{ij}|}{w_i |d_i|}$  και στη συνέχεια ο μέσος όρος  $MRE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} RE_i$  των *n* σετ δεδομένων τα οποία έχουν θετικούς συντελεστές βαρύτητας ( $w_i > 0$ ). Παρομοίως, για τον προσδιορισμό του SMSE, υπολογίστηκε αρχικά το συμμετρικό τετραγωνικό σφάλμα (Symmetric Squared Error, SSE) για κάθε σετ δεδομένων ως  $RE_i = \sum_{j=1}^{n_i} \frac{w_{ij} |p_{ij} - d_{ij}|}{w_i - d_{ij}}$  και στη συνέχεια ο μέσος όρος MRE =  $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} RE_i$  των *n* σετ δεδομένων τα οποία έχουν θετικούς συντελεστές βαρύτητας ( $w_i > 0$ ). Παρομοίως, για τον προσδιορισμό του SMSE, υπολογίστηκε αρχικά το συμμετρικό τετραγωνικό σφάλμα (Symmetric Squared Error, SSE) για κάθε σετ δεδομένων ως  $RE_i = \sum_{j=1}^{n_i} \frac{w_{ij} (p_{ij} - d_{ij})^2}{w_i^2 - d_{i}^2 + p_i^2}$  και στη συνέχεια ο μέσος όρος  $SMSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} SSE_i$ . Σημειώνεται ότι το SMSE παίρνει τιμές στο διάστημα [0,1] και το MRE στο διάστημα [0, ∞), ενώ και στις δύο περιπτώσεις το 0 σημαίνει τέλεια προσαρμογή στα δεδομένα.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> (https://add-my-pet.github.io/DEBportal/docs/AmPestimation.html)

Ανάλογα με τον τύπο και την πολυπλοκότητα τον δεδομένων που μπορεί να χρησιμοποιηθούν στη διαδικασία εκτίμησης παραμέτρων, αυτά χαρακτηρίζονται είτε ως σημειακά (zero-variate), είτε ως μονομεταβλητά (uni-variate). Τα πρώτα αποτελούνται από μια και μοναδική τιμή ενός χαρακτηριστικού που μπορεί να αφορά σε πληροφορίες του κύκλου ζωής, όπως για παράδειγμα η ηλικία και το μέγεθος, στα οποία πραγματοποιούνται μεταβάσεις μεταξύ των διάφορων αναπτυξιακών σταδίων, ενώ τα μονομεταβλητά είναι δεδομένα που περιλαμβάνουν πολλές τιμές μιας συγκεκριμένης μεταβλητής όπως για παράδειγμα χρονοσειρές αύξησης, αναπαραγωγής, κατανάλωσης τροφής, κατανάλωσης οξυγόνου και παραγωγής μεταβολικών παραπροϊόντων υπό διαφορετικές συνθήκες. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν και οι δύο τύποι δεδομένων που προήλθαν από τη βιβλιογραφία, αλλά και από τα πειράματα που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 2. Ειδικότερα, συμπεριλήφθηκαν σετ δεδομένων σε υψηλές θερμοκρασίες, για να καταστεί δυνατή η εκτίμηση των παραμέτρων Arthenius, αλλά και δεδομένα κάτω από ποικίλες διατροφικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένης και της ασιτίας, για να εκτιμηθούν οι παράμετροι που απαιτούνται για τον προσδιορισμό της σωματικής σύστασης.

Οσον αφορά στα φίλτρα, αυτά εφαρμόστηκαν για να διασφαλίσουν ότι όλες οι παράμετροι λάμβαναν θετικές τιμές, καθώς και ότι δεν παραβιάζονταν φυσικά όρια παραμέτρων που ορίζονται στο εύρος [0, 1], όπως για παράδειγμα η λειτουργική απόκριση f. Παράμετροι για τις οποίες δεν υπήρχε επαρκής πληροφορία και δεν μπόρεσαν να εκτιμηθούν, όπως οι  $\kappa_R$ ,  $k_j$  και οι χημικοί δείκτες των στοιχείων, χρησιμοποιήθηκαν οι προκαθορισμένες τιμές που αποδίδονται τυπικά για τους Ακτινοπτερύγιους ιχθείς (AmP, 2022). Όπου πραγματοποιήθηκε ψηφιοποίηση δεδομένων από δημοσιευμένα γραφήματα αυτό έγινε με το ελεύθερο λογισμικό WebPlotDigitalizer (Rohatgi, 2021). Η παραμετροποίηση έγινε σε περιβάλλον προγραμματισμού MATLAB ενώ χρησιμοποιήθηκε και το ελεύθερο λογισμικό DEBtool (DEBtool, 2021).

### 3.2.5 Επαλήθευση μοντέλων

Μετά την παραμετροποίηση των μοντέλων ακολούθησε η επαλήθευσή τους με δεδομένα παραγωγής από πραγματικές συνθήκες εκτροφής σε ιχθυοκλωβούς. Τα δεδομένα αφορούν μηνιαίες χρονοσειρές βάρους και κατανάλωσης τροφής για τα δύο είδη (Stavrakidis-Zachou et al., 2019, 2021a). Παρουσιάζονται εδώ τέσσερις τέτοιες χρονοσειρές δεδομένων για το λαβράκι και δύο για τον κρανιό. Οι μέσοι ημερήσιοι ρυθμοί κατανάλωσης τροφής υπολογίστηκαν ως η συνολική τροφή που ταΐστηκε ανά κλωβό μεταξύ καταγραφών διαιρεμένη με τον αριθμό των ψαριών του κλωβού και τον αριθμό ημερών μεταξύ μετρήσεων βάρους. Η μέση μηνιαία επιφανειακή θερμοκρασία για την κάθε περίοδο εκτροφής χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για την προσομοίωση της αύξησης των ψαριών και έπειτα οι προβλέψεις των μοντέλων συγκρίθηκαν με τα δεδομένα πεδίου.

Στην ιχθυοκαλλιέργεια υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στις επιδόσεις μεταξύ ατόμων, ακόμα και αν αυτά προέρχονται από έναν μικρό αριθμό γεννητόρων (Chistiakov et al., 2005). Οι διαφορές αυτές οφείλονται τόσο σε γενετικούς, όσο και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και εκφράζονται φαινοτυπικά μεταξύ άλλων ως διαφορές στο τελικό μέγεθος και την ηλικία μετάβασης μεταξύ αναπτυξιακών σταδίων. Για να αντικατοπτριστούν αυτές οι διαφορές κατά την επαλήθευση των μοντέλων, εισάχθηκε μια μορφή δι-ατομικής μεταβλητότητας στις προσομοιώσεις. Αυτό έγινε μέσω κατανομής των ατόμων σε διακριτές ομάδες που διαφέρουν σε κάποιες από τις τιμές των DEB παραμέτρων τους, αλλά και στο αρχικό τους βάρος. Συγκεκριμένα, υποθέτουμε ότι οι τιμές των παραμέτρων διαφέρουν μεταξύ των ατόμων σύμφωνα με τους κανόνες συμμεταβολής που εφαρμόζονται μεταξύ διαφορετικών ειδών (Kooijman, 2010), αλλά σε ένα στενότερο εύρος μεταβολής. Η συμμεταβολή των παραμέτρων μεταξύ ειδών γίνεται μέσω του μεγεθυντικού παράγοντα  $z = L_m / L_m^{ref}$ , όπου  $L_m = \kappa \{\dot{p}_{Am}\} / [\dot{p}_M]$  είναι το μέγιστο δομικό μήκος του είδους και  $L_m^{ref} = 1 \ cm$  είναι ένα μέγιστο δομικό μήκος αναφοράς. Σύμφωνα με τους κανόνες συμμεταβολής, μόνο οι παράμετροι που σχετίζονται με τη φυσική δομή του οργανισμού εξαρτώνται από το μέγιστο μέγεθος, οι οποίες είναι οι:  $\{\dot{p}_{Am}\}, E^b_H, E^p_H, \ddot{h}_a$ . Επομένως, για δύο είδη αυτές οι παράμετροι σχετίζονται μεταξύ τους ως:  $\{\dot{p}_{Am}^2\} = z\{\dot{p}_{Am}^1\}, E_{H2}^b = z^3 E_{H1}^b, E_{H2}^p = z^3 E_{H1}^p$ και  $\ddot{h}_a^2 = z\ddot{h}_a^1$ .

Στην περίπτωση της δι-ατομικής μεταβλητότητας ορίζουμε τον παράγοντα  $\zeta = z/z^0 = L_m/L_m^0$ , όπου  $z^0$  και  $L_m^0$  είναι ο μεγεθυντικός παράγοντας και το μέγιστο δομικό μήκος του ατόμου αναφοράς, δηλαδή του ατόμου που φέρει τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν. Έτσι, κάθε άτομο σχετίζεται με το άτομο αναφοράς ως:  $\{\dot{p}_{Am}\} = \zeta\{\dot{p}_{Am}^0\}$ ,  $E_H^b = \zeta^3 E_{H0}^b$ ,  $E_H^p = \zeta^3 E_{H0}^p$ , και  $\ddot{h}_a = \zeta \ddot{h}_a^0$ . Στις προσομοιώσεις, αντιστοιχήθηκε κάθε άτομο με μια διαφορετική τιμή του παράγοντα  $\zeta$  που πάρθηκε τυχαία από μια κανονική κατανομή με μέση τιμή ένα και τυπική απόκλιση  $\sigma/z^0$ . Συνολικά, για κάθε χρονοσειρά δεδομένων προσομοιώθηκαν 500 τέτοια άτομα (500 προσομοιώσεις Monte Carlo), στις οποίες μάλιστα και το αρχικό βάρος ( $W_0$ ) διέφερε, παίρνοντας τυχαίες τιμές από μια κανονική κατανομή με μέση τιμή την τιμή της πρώτης μέτρησης βάρους. Οι

συντελεστές μεταβλητότητας των κατανομών από τις οποίες τυχαία επιλέγονται τιμές των  $\zeta$  και  $W_0$  είναι αντίστοιχα cv = 0.05 και cv = 0.1.

## 3.3 Προσομοιώσεις

### 3.3.1 Σωματική σύσταση

Από την προσέγγιση που περιεγράφηκε για την εκτίμηση της σωματικής σύστασης προκύπτει ότι αλλαγές στη σχετική αφθονία των αποθεμάτων στο σύνολο της βιομάζας μεταφράζονται σε αλλαγές στη συνολική σωματική σύσταση όσον αφορά τα επίπεδα υγρασίας, πρωτεϊνών και λιπών. Εδώ διερευνώνται αυτές οι ιδιότητες μέσω προσομοιώσεων χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους των μοντέλων που εκτιμήθηκαν. Συγκεκριμένα, θεωρήθηκε *e* η σχετική (υπό κλίμακα) πυκνότητα των αποθεμάτων.

$$e = \frac{[E]}{[E_m]} = m_E / m_{Em} \qquad \qquad E\xi i \sigma \omega \sigma \eta \ 3-21$$

Η σχετική πυκνότητα *e* αποτελεί ένα μέτρο της κατάστασης των ενεργειακών αποθεμάτων αφού εκφράζει το ποσοστό αποθεμάτων που διαθέτει ένας οργανισμός σε σχέση με το μέγιστο. Συνεπώς, βάσει των διατυπώσεων της ενότητας 3.2.3 η σωματική σύσταση αναμένεται να αλλάζει κάτω από διαφορετικά *e* και γι' αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις προβλέποντας τη σωματική σύσταση των δύο ειδών στο πεδίο ορισμού της *e* ([0,1]). Ως μέτρο περαιτέρω επαλήθευσης του μοντέλου παρατίθενται για σύγκριση και οι τιμές που προσδιορίστηκαν πειραματικά στο Κεφάλαιο 2.

Επίσης, μελετήθηκε η συνδυαστική επίδραση της θερμοκρασίας και της λειτουργικής απόκρισης (η οποία αποτελεί μέτρο της διαθεσιμότητας τροφής και άρα σε σταθερό περιβάλλον ισχύει e = f) στη σωματική σύσταση με προσομοιώσεις για τιμές του f μεταξύ 0 και 1 εντός του εύρους θερμοκρασιακής ανοχής. Τέλος, παρουσιάζονται παραδείγματα που απεικονίζουν τη χρονική διάσταση αυτών των μεταβολών υπό συνθήκες υψηλής (f = 1) και χαμηλής (f = 0,1) διαθεσιμότητα τροφής. Δεδομένου ότι οι τάσεις στις παραπάνω προσομοιώσεις ήταν παρόμοιες για τα δύο είδη, παρατίθενται μόνο τα αποτελέσματα για το λαβράκι.

## 3.3.2 Οξεία θερμική καταπόνηση

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται μια προσέγγιση περιγραφής των ανώτατων θερμικών ορίων των ψαριών με βιοενεργητικούς όρους. Κεντρική ιδέα σε αυτή την προσέγγιση είναι η έννοια της ενεργειακά περιοριστικής ανοχής στην καταπόνηση. Πρόκειται για μια εδραιωμένη βιοενεργητική αντίληψη όσον αφορά τη χρόνια καταπόνηση και τις επιπτώσεις της ισορροπίας ενέργειας στην αρμοστικότητα των οργανισμών, δηλαδή την επιτυχία τους για επιβίωση και αναπαραγωγή, που με τη σειρά της αντανακλά την καταλληλόλητα των προσαρμογών που έχουν εξελίξει για το συγκεκριμένο περιβάλλον στο οποίο διαβιούν (Haider et al., 2020, McCue et al., 2017, Sokolova et al., 2012), ωστόσο σε αυτή την παράγραφο επεκτείνουμε το συλλογισμό και σε συνθήκες οξείας καταπόνησης για να περιγράψουμε τα ανώτερα όρια θερμικής ανοχής κατά τη διάρκεια οξέος θερμικού πλήγματος εντοπίζεται στο σημείο τομής των ενεργειακών απαιτήσεων για τη διατήρηση και την ικανότητα παροχής ενέργειας από τον οργανισμό, δηλαδή τη διαθέσιμη ενέργεια.

Η ικανότητα των ενζύμων να καταλύουν αντιδράσεις του μεταβολισμού εξαρτάται από τη γεωμετρία τους και ειδικότερα από τη δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου, όπου έρχονται σε επαφή με τα υποστρώματα της αντίδρασης. Συχνά, οι οργανισμοί φέρουν πολλές εκδοχές ενός ενζύμου (ισοένζυμα) τα οποία καταλύουν την ίδια αντίδραση, αλλά διαφέρουν στην τρισδιάστατη διαμόρφωσή τους (τριτοταγής δομή) και εμφανίζουν διαφορετική θερμοευαισθησία. Κατά το θερμικό εγκλιματισμό, οι οργανισμοί μπορούν να προσαρμόσουν την ενζυμική τους ικανότητα αλλάζοντας τη γεωμετρία των ενζύμων τους, ρυθμίζοντας δηλαδή προς τα πάνω εκείνα τα ισοένζυμα που έχουν καλύτερη θερμική ευαισθησία στη θερμοκρασία εγκλιματισμού (Jones et al., 2020, Maffucci et al., 2020, Somero, 2004). Ωστόσο αυτή η διαδικασία απαιτεί σημαντικό χρόνο που κυμαίνεται από μέρες μέχρι εβδομάδες. Στην περίπτωση θερμικό πλήγματος μικρής διάρκειας, της τάξης των λεπτών, ο οργανισμός δεν προλαβαίνει να προσαρμόσει τους ενζυμικούς του μηχανισμούς, και συνεπώς η ικανότητά του να επιτελεί μεταβολικό έργο περιορίζεται από την κατάσταση στην οποία βρισκόταν κατά την έναρξη της θερμικής πρόκλησης. Με αυτό το σκεπτικό, εδώ γίνεται η παραδοχή ότι κατά τη διάρκεια οξέος θερμικού πλήγματος η ικανότητα κινητοποίησης ενέργειας από τα αποθέματα παραμένει σταθερή και εξαρτάται εξ' ολοκλήρου από

τη θερμοκρασία εγκλιματισμού. Με άλλα λόγια, η ροή κινητοποίησης αποθέματος κατά τη διάρκεια αυτής της πρόκλησης θα ισούται με (Εξίσωση 3-22):

$$\dot{p}_{C} = \dot{p}_{Cref} s_{LH}(T_{a})$$
 Ežíσωση 3-22

όπου  $\dot{p}_{Cref}$  η ροή κινητοποίησης αποθέματος στη θερμοκρασία αναφοράς  $T_{ref}$  και  $s_{LH}(T_a)$  ο σταθερός διορθωτικός παράγοντας θερμοκρασίας στη θερμοκρασία εγκλιματισμού  $T_a$ .

Κάτω από συνθήκες καταπόνησης, όπως αυτές μια ραγδαίας αύξησης της θερμοκρασίας, οι οργανισμοί επιστρατεύουν πολυπληθείς συμπεριφορικούς, κυτταρικούς, και φυσιολογικούς μηχανισμούς για να ανταπεξέλθουν στις αρνητικές επιδράσεις της καταπόνησης και να διατηρήσουν την ομοιόστασή τους. Σε κυτταρικό επίπεδο, αυτό προκαλεί ένα σύνολο αποκρίσεων που περιλαμβάνουν επιδιόρθωση βλαβών στο DNA, επιδιόρθωση πρωτεϊνών, διακοπή του κυτταρικού κύκλου ή ακόμα και κυτταρική απόπτωση, αφαίρεση κατεστραμμένων από την καταπόνηση κυτταρικών και μοριακών τμημάτων και γενικότερα μια συνολική μετάβαση από κατάσταση κυτταρικής αύξησης σε κυτταρική επιδιόρθωση (Kassahn et al., 2009, Kültz, 2005, Sokolova et al., 2012). Σε επίπεδο ολόκληρου οργανισμού, αντισταθμιστικοί μηχανισμοί μπορεί να περιλαμβάνουν επίσης συμπεριφορά διαφυγής και επιτάχυνση της κίνησης των βραγχίων, του καρδιακού παλμού και της πρόσληψης οξυγόνου. Ωστόσο, ενώ αυτές οι αντισταθμιστικές διεργασίες των κυττάρων και ολόκληρου του οργανισμού είναι απαραίτητες για την επιβίωση, είναι ενεργειακά δαπανηρές και τείνουν να εκτρέπουν τη ροή ενέργειας από λειτουργίες που σχετίζονται με την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή σε διαδικασίες όπως η συντήρηση και η επισκευή, δρώντας έτσι αρνητικά στη συνολική αρμοστικότητα του οργανισμού. Έτσι, η απόκριση ενός οργανισμού και κατ' επέκταση τα όρια ανοχής του στη χρόνια καταπόνηση εξαρτώνται από τα διαθέσιμα αποθέματα ενέργειας όπως έχει δειχθεί για πολλές ομάδες οργανισμών, όπως οι πολύχαιτοι (Madeira et al., 2021), τα έντομα (Klepsatel et al., 2016) και τα ψάρια (Eldridge et al., 2015). Υποκατηγορία αυτού του πλαισίου αποτελεί και η υπόθεση OCLTT (Oxygen and Capacity Limited Thermal Tolerance) (Javal et al., 2019, Pörtner et al., 2017), καθώς αναγνωρίζει τη διαθέσιμη ενέργεια ως τον καθοριστικό παράγοντα θερμικής ανοχής στους εξώθερμους οργανισμούς. Η κύρια διαφορά είναι ότι οι ενεργειακές απαιτήσεις εκφράζονται μέσω της οξειδωτικής ικανότητας των οργανισμών και συνεπώς το αερόβιο δυναμικό (η διαθεσιμότητα οξυγόνου) χρησιμοποιείται σαν μέτρο της διαθεσιμότητας ενέργειας. Εδώ, σαν τέτοιο μέτρο χρησιμοποιούμε τη ροή κινητοποίησης,  $\dot{p}_{c}$ , θεωρώντας ότι για μικρές χρονικές κλίμακες είναι πιο

αντιπροσωπευτική από τη συνολική ενέργεια των αποθεμάτων, η οποία δεν είναι άμεσα διαθέσιμη.

Κατά τη διάρκεια οξέος θερμικού πλήγματος, οι ενεργειακές απαιτήσεις για βασικό μεταβολισμό αυξάνονται εκθετικά με τη θερμοκρασία. Όπως υποδεικνύεται και από πλήθος μελετών, ο τυπικός μεταβολικός ρυθμός, που εκφράζει αυτές τις απαιτήσεις, αυξάνεται εκθετικά με τη θερμοκρασία ως και τα ανώτερα θερμικά όρια των οργανισμών, όπου η φυσιολογία τους καταρρέει (Beuvard et al., 2022, Christensen et al., 2020, Claireaux et al., 2006, Leonard & Skov, 2022, Tirsgaard et al., 2015). Σε αντίθεση, καθώς προσεγγίζονται αυτά τα όρια, ο Μέγιστος Μεταβολικός ρυθμός ή ο ρυθμός ηρεμίας φτάνουν σε πλατό ή μπορεί να σημειώσουν ακόμα και μείωση (Leonard & Skov, 2022, Pörtner et al., 2017), κάτι που οφείλεται σε προσωρινή παύση ενεργειακά δαπανηρών διεργασιών, όπως η αύξηση και η αναπαραγωγή, σε μια προσπάθεια των οργανισμών να εκτρέψουν ενέργεια σε διεργασίες διατήρησης και αυτοσυντήρησης. Η παρατήρηση ότι ο τυπικός μεταβολικός ρυθμός συνεχίζει να αυξάνεται με τη θερμοκρασία σχετίζεται με τις ενεργειακές ανάγκες που εκπροσωπεί. Δηλαδή, ανεξαρτήτως της ικανότητας του οργανισμού να επιδιορθώσει βλάβες που προκαλούνται από τη θερμοκρασία (όπως βλάβες στο DNA, μετουσίωση πρωτεϊνών, δημιουργία ελεύθερων ριζών), η πρόκληση αυτών των βλαβών αυξάνεται εκθετικά με τη θερμοκρασία και ανάλογα αυξάνεται και η ενέργεια που απαιτείται για την επιδιόρθωσή τους. Με βάση τα παραπάνω, και κατ' αντιστοιχία με τις παρατηρούμενες τάσεις στον SMR, για τη προσομοίωση του οξέος θερμικού πλήγματος θα θεωρήσουμε ότι η επίδραση της θερμοκρασίας στο κόστος διατήρησης περιγράφεται από την τυπική μορφή της εξίσωσης Arrhenius (Εξίσωση 3-5). Έτσι το κόστος διατήρησης κατά τη διάρκεια μιας τέτοιας θερμικής πρόκλησης θα είναι  $\dot{p}_S = \dot{p}_{S1} s_A(T)$  και  $\dot{p}_J = \dot{p}_{J1} s_A(T)$ , όπου  $\dot{p}_{S1}$ και  $\dot{p}_{J1}$  είναι οι ροές σωματικής διατήρησης και ωρίμανσης στη θερμοκρασία αναφοράς  $T_1$  και  $s_A(T)$  ο διορθωτικός παράγοντας θερμοκρασίας, ο οποίος θα αυξάνει κατά την εξέλιξη της προσομοίωσης με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Συνδυάζοντας τα παραπάνω προκύπτει ότι η συνολική διαθέσιμη ενέργεια του οργανισμού κατά τη διάρκεια της προσομοιωμένης θερμικής καταπόνησης θα ισούται με  $\dot{p}_{c}(T_{\alpha}) - \dot{p}_{s}(T) - \dot{p}_{J}(T)$ . Η συνεχής αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί εκθετική αύξηση του κόστους διατήρησης και οδηγεί αναπόδραστα σε μηδενισμό της διαθέσιμης ενέργειας όταν  $\dot{p}_{c}(T_{\alpha}) = \dot{p}_{s}(T) - \dot{p}_{J}(T)$ . Αυτό σηματοδοτεί την αδυναμία του ατόμου να τροφοδοτήσει πλέον βασικές μεταβολικές
λειτουργίες. Η θερμοκρασία μηδενισμού της διαθέσιμης ενέργειας αποτελεί συνεπώς μια κατωφλική τιμή ενδιαφέροντος, την οποία εδώ ορίζουμε σαν κρίσιμη θερμοκρασία T<sub>crit</sub>.

Εφαρμόζοντας την παραπάνω προσέγγιση, πραγματοποιήθηκε διερεύνηση των παραγόντων που επηρεάζουν την ικανότητα των ψαριών να ανταπεξέλθουν σε οξεία θερμική καταπόνηση. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις στις οποίες μελετήθηκε η επίδραση των αρχικών συνθηκών στη κρίσιμη θερμοκρασία που επιτυγχάνουν τα ψάρια. Οι αρχικές συνθήκες που μελετήθηκαν συνδέονται τόσο με την κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα ψάρια όσο και με το πειραματικό πρωτόκολλο. Ειδικότερα, διερευνήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας εγκλιματισμού, του μεγέθους των ψαριών, της κατάστασης των ενεργειακών αποθεμάτων τους και τέλος, της ταχύτητας αύξησης της θερμοκρασίας κατά την πρόκληση οξείας θερμικής καταπόνησης.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τις προσομοιώσεις περιλάμβανε τα εξής στάδια. Αρχικά, επιλέχθηκε ένα σενάριο αναφοράς, με τιμές αρχικών παραμέτρων παραπλήσιες αυτών που παρουσιάστηκαν στο πειραματικό μέρος και σε συμφωνία με κοινές πρακτικές κατά τον προσδιορισμό της μέγιστης κρίσιμης θερμοκρασίας. Συγκεκριμένα, το σενάριο αναφοράς αφορά σε ψάρια βάρους 200g που έχουν εγκλιματιστεί στη θερμοκρασία αναφοράς ( $T_{ref}$  = 293 °K) κάτω από βέλτιστες τροφικές συνθήκες (f = 1) και τα οποία υποβάλλονται σε οξεία θερμική καταπόνηση με έναν ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας 0,5 °C ανά λεπτό. Στη συνέχεια, για τις συνθήκες των οποίων η επίδραση διερευνήθηκε, πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις και υπολογίστηκε η κρίσιμη θερμοκρασία. Σε αυτές διατηρούνταν σταθερές οι τιμές του σεναρίου αναφοράς και μεταβάλλονταν κάθε φορά μόνο οι τιμές της υπό μελέτης παραμέτρου. Στο παράδειγμα της Εικόνας 3-3 φαίνεται σχηματικά το σημείο που επιτυγχάνεται η κρίσιμη θερμοκρασία καθώς μια από αυτές τις παραμέτρους (θερμοκρασία εγκλιματισμού) μεταβάλλεται.



Εικόνα 3-3 Παράδειγμα σχηματικής αναπαράστασης των DEB ροών συναρτήσει του χρόνου κατά την πρόκληση οξείας θερμικής καταπόνησης. Το σημείο τομής των ροών κινητοποίησης και διατήρησης (κύκλοι) αντιπροσωπεύει το χρόνο αντίστασης, δηλαδή το χρονικό σημείο στο οποίο επιτυγχάνεται η κρίσιμη θερμοκρασία καθώς η θερμοκρασία εγκλιματισμού διαφοροποιείται σε κάθε προσομοίωση (N = 10).

Figure 3-3 Schematic representation example of the DEB fluxes as a function of temperature during an acute thermal challenge. The intersection between the mobilization and maintenance fluxes (circles) represents the resistance time, which is the time needed to achieve the critical temperature. The differentiating parameter in each simulation is the acclimation temperature (N = 10).

Επιπλέον, διερευνήθηκε η επίδραση των βασικών DEB παραμέτρων στην κρίσιμη θερμοκρασία μέσω ανάλυσης ευαισθησίας του μοντέλου. Ειδικότερα, μελετήθηκε πως οι αλλαγές στις παραμέτρους επηρεάζουν την τιμή της κρίσιμης θερμοκρασίας βάση της OAT (One-at-a-Time) μεθοδολογίας (Douglas-Smith et al., 2020). Για κάθε μία από τις παραμέτρους του μοντέλου δόθηκαν εκ περιτροπής τιμές ± 10% της της αρχικής (Razavi & Gupta, 2015), ενώ οι υπόλοιπες παράμετροι διατηρούνταν σταθερές, και προσδιορίστηκε η κρίσιμη θερμοκρασίας ( $T_{crit}^{\pm 10\%}$ ). Στη συνέχεια υπολογίστηκε η σχετική διαφορά (RD) της κρίσιμης θερμοκρασίας ως προς την τιμή αναφοράς ( $T_{crit}^{ref}$ ) ως  $RD = \frac{T_{crit}^{\pm 10\%} - T_{crit}^{ref}}{T_{crit}^{ref}}$  100.

### 3.4 Αποτελέσματα

#### 3.4.1 Εκτίμηση παραμέτρων

Η διαδικασία της παραμετροποίησης κατέληξε σε καλή συμφωνία μεταξύ δεδομένων και προβλέψεων του μοντέλου όπως αποτυπώθηκε από την προσαρμογή των δεδομένων (goodness of fit). Το μέσο σχετικό σφάλμα (MRE) ήταν 0,362 για το λαβράκι και 0,161 για τον κρανιό, ενώ οι τιμές του συμμετρικού μέσου τετραγωνικού σφάλματος (SMSE) ήταν 0,247 και 0,141 αντίστοιχα. Ο Πίνακας 3-3 συνοψίζει τις παραμέτρους για τα δύο είδη.

Σύμβολο	Μονάδες	Λαβράκι	Κρανιός	
$\{\dot{p}_{Am}\}$	J cm <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup>	84,04/611,25 <sup>a</sup>	77,36/683,89 <sup>a</sup>	
$\dot{v}$	$\mathrm{cm}\mathrm{d}^{-1}$	0,041/0,294ª	0,046/0,403ª	
κ	-	0,63	0,84	
$\kappa_X$	-	0,86	0,89	
$[\dot{p}_M]$	J cm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>	19,4	10,93	
<i>k</i> <sub>J</sub>	d-1	0,002 <sup>b</sup>	0,002 <sup>b</sup>	
$[E_G]$	J cm <sup>-3</sup>	5243	6671	
$E_H^h$	J	0,16	0,026	
$E_H^b$	J	1,61	0,371	
$E_H^j$	J	596,8	185,6	
$E_H^p$	J	2,49 106	$2,51\ 10^6$	
$\ddot{h}_a$	d <sup>-2</sup>	1,77 10-9	9,75 10-9	
Ζ	-	2,74	5,96	
$\delta_M$	-	0,162	0,212	
$T_A$	Κ	5463	11114	
$T_H$	Κ	303,8	301,5	
$T_L$	Κ	280,3	280 <sup>b</sup>	
$T_{AH}$	Κ	79856	85923	
$T_{AL}$	Κ	45347	7069	
$d_{Vd}$	g cm <sup>-3</sup>	0,199	0,253	
$d_{Ed}$	g cm <sup>-3</sup>	0,999	0,997	
$\mu_V$	J mol <sup>-1</sup>	504953	504910	
$\mu_E$	J mol <sup>-1</sup>	630950	630804	
$ heta_{PrV}$	-	0,631	0,739	
$ heta_{PrE}$	-	0,224	0,026	
$ heta_{LV}$	-	0,369	0,261	
$ heta_{LE}$	-	0,776	0,974	

Πίνακας 3-3 Οι τιμές των DEB παραμέτρων για το λαβράκι και τον κρανιό (στη θερμοκρασία αναφοράς 20°C). Table 3-3 The DEB parameters for E. sea bass and meagre (at the reference temperature 20°C).

<sup>a</sup>Τιμές πριν/μετά τη μεταβολική επιτάχυνση και την ολοκλήρωση της μεταμόρφωσης.

<sup>b</sup> Προκαθορισμένη.

Συγκεκριμένα για το λαβράκι, πτυχές του κύκλου ζωής του αποτυπώθηκαν καλά από το μοντέλο (Πίνακας 3-4). Η ηλικία στη μεταμόρφωση, η διάρκεια ζωής και το βάρος κατά την ενηλικίωση καταγράφηκαν με τη μεγαλύτερη ακρίβεια, ενώ υψηλότερες αποκλίσεις παρατηρήθηκαν για το μήκος κατά την εκκόλαψη, το τελικό βάρος και το βάρος κατά το πρώτο τάισμα.

Πίνακας 3-4 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου λαβρακιού με παρατηρούμενες ηλικίες, μήκη, και βάρη για τα διάφορα αναπτυζιακά στάδια. Η τελευταία στήλη δίνει το σχετικό σφάλμα (Relative Error, RE) για κάθε σημείο.

Μεταβλητή	T(°C)	Περιγραφή	Παρατηρήσεις	Προβλέψεις	RE
<i>a<sub>h</sub></i> (d)	15	Ηλικία στην εκκόλαψη	3,6	3,94	0,095
$a_h(d)$	17	Ηλικία στην εκκόλαψη	2,9	3,43	0,184
$t_b(\mathbf{d})$	16	Χρόνος μεταξύ εκκόλαψης – πρώτου ταίσματοςς	9	7,61	0,154
$t_b(\mathbf{d})$	19	Χρόνος μεταξύ εκκόλαψης – πρώτου ταίσματος	7	6,23	0,109
$t_j(d)$	19	Χρόνος μεταξύ εκκόλαψης - μεταμόρφωσης	70	68,79	0,017
$a_m(d)$	20	Διάρκεια ζωής	5475	5567	>0,01
$L^h_w(\mathrm{cm})$		Ολικό μήκος στην εκκόλαψη	0,35	0,229	0,345
$L^b_w(\mathrm{cm})$		Ολικό μήκος στη γέννηση	0,55	0,496	0,097
$L_w^j$ (cm)		Ολικό μήκος στη μεταμόρφωση	4	3,34	0,164
$L_w^i$ (cm)		Τελικό ολικό μήκος	103	114	0,103
$W^b_w(\mathbf{g})$		Νωπό βάρος στη γέννηση	43 10-5	57 10 <sup>-5</sup>	0,319
$W_w^p(g)$		Νωπό βάρος στην ενηλικίωση	700	705,8	>0,01
$W^i_w(g)$		Τελικό νωπό βάρος	10000	6820	0,319

Table 3-4 Comparison of E. sea bass model predictions with the observed ages, lengths, and weights at different developmental stages. The last column indicates the Relative Error (RE) for each data point.

Το μοντέλο απέδωσε ιδιαίτερα καλά το πρότυπο αύξησης του λαβρακιού, με τις καμπύλες πρόβλεψης να ταιριάζουν με ακρίβεια με τις παρατηρήσεις, όπως φάνηκε από την προσαρμογή των μονομεταβλητών δεδομένων (Εικόνα 3-4). Το μοντέλο κατέγραψε τις τάσεις τόσο ποσοτικά (RE μεταξύ 0,02 και 0,12) όσο και ποιοτικά, δεδομένου ότι οι εποχιακές αλλαγές στο βάρος απεικονίστηκαν με ακρίβεια (Εικόνα 3-4, β), ενώ αποτυπώθηκε επίσης με ακρίβεια και η επίδραση διαφορετικών χρόνιων θερμοκρασιών, όπως αυτές του πειράματος του Κεφαλαίου 2 (Εικόνα 3-4, ε). Οι προβλέψεις σχετικά με την πρόσληψη τροφής (Εικόνα 3-4, δ), την αναπαραγωγική απόδοση (Εικόνα 3-5, α) και την απέκκριση αμμωνίας (Εικόνα 3-4, στ) ήταν επίσης αρκετά ακριβείς, ενώ αποδόθηκαν καλά και η μεταβολή του βάρους, αλλά και οι μεταβολές στη σωματική σύσταση υπό διαφορετικές τροφικές συνθήκες (Εικόνα 3-5, β-ε)



Εικόνα 3-4 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου για το λαβράκι (γραμμές) με δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση παραμέτρων (σημεία): a) ολικό μήκος συναρτήσει χρόνου σε προνύμφες (Lika et al., 2015), β) βάρος συναρτήσει χρόνου σε κλωβούς (Papandroulakis et al., 2014), γ) βάρος συναρτήσει χρόνου σε προνύμφες (Lika et al., 2015), δ) ημερήσια κατανάλωση τροφής σε διαφορετικά βάρη (Zanuy & Carrillo, 1985), ε) βάρος συναρτήσει χρόνου υπό διαφορετικές θερμοκρασίες (πείραμα, Κεφάλαιο 2), κόκκινο: 24 °C, μπλέ: 28 °C, μάυρο: 33 °C, στ) απέκκριση αμμωνίας υπό διαφορετικές θερμοκρασίες (Person-Le Ruyet et al., 2004).

Figure 3-4 Comparison of model predictions (lines) for E. seabass with the data used for the parameter estimation (points): a) total length as a function of time for larvae (Lika et al., 2015),  $\beta$ ) weight as a function of time in cages (Papandroulakis et al., 2014),  $\gamma$ ) weight as a function of time in larvae (Lika et al., 2015),  $\delta$ ) daily feed intake at different weights (Zanuy & Carrillo, 1985),  $\varepsilon$ ) weight as a function of time at different temperatures (trial of Chapter 2), red: 24 °C, blue: 28 °C, black: 33 °C,  $\sigma\tau$ ) ammonia exretion rate under different temperatures (Person-Le Ruyet et al., 2004).



Εικόνα 3-5 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου για το λαβράκι (γραμμές) με δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση παραμέτρων (σημεία): α) παραγωγή αβγών συναρτήσει του βάρους, β) απώλεια βάρους υπό ασιτία (Stirling, 1976), β), γ-ε) ημερήσια μεταβολή σωματικού βάρους, ενέργειας, και πρωτεϊνών υπό διαφορετικές ποσότητες τροφής (Lupatsch et al., 2001).

Figure 3-5 Comparison of model predictions (lines) for E. seabass with the data used for the parameter estimation (points): a) egg production as a function of weight,  $\beta$ ) weight loss under starvation (Stirling, 1976),  $\gamma$ - $\varepsilon$ ) daily change of body weight, energy, and protein under different feeding levels (Lupatsch et al., 2001).

Όσον αφορά το μοντέλο του κρανιού, η προσαρμογή των δεδομένων στα σημειακά δεδομένα ήταν γενικά καλή (Πίνακας 3-5). Χαρακτηριστικά του κύκλου ζωής όπως το τελικό μήκος, το τελικό βάρος, και η διάρκεια ζωής αντικατοπτρίστηκαν με ιδιαίτερη ακρίβεια (RE < 0,1), ενώ μεγαλύτερες αποκλίσεις υπήρχαν για λεπτομέρειες των προνυμφικών σταδίων, όπως η ηλικία και το μήκος κατά την εκκόλαψη (RE = 0,31), αλλά και για τον γοναδοσωματικό δείκτη (RE = 0,75).

Πίνακας 3-5 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου κρανιού με παρατηρούμενες ηλικίες, μήκη, και βάρη (όπου διαθέσιμα) για τα διάφορα αναπτυζιακά στάδια. Η τελευταία στήλη δίνει το σχετικό σφάλμα (Relative Error, RE) για κάθε σημείο.

Table 3-5 Compo	rison of	meagre	model	predictions	with th	e observed	l ages,	lengths,	and	weights	at	different
developmental sta	ges. The	last colui	nn indi	cates the Rel	lative Ei	ror (RE) fo	or each a	data poir	nt.			

Μεταβλητή	T(°C)	Περιγραφή	Παρατηρήσεις	Προβλέψεις	RE
<i>a<sub>h</sub></i> (d)	22	Ηλικία στην εκκόλαψη	1	1,3	0,307
$t_b(\mathbf{d})$	22	Χρόνος από την εκκόλαψη στη γέννηση	4	3,34	0,164
$t_j(d)$	22	Χρόνος μεταξύ εκκόλαψης - μεταμόρφωσης	35	40,51	0,157
$a_p(d)$	17,5	Ηλικία στην ενηλικίωση	1278	1144	0,104
<i>a<sub>m</sub></i> (d)	18	Διάρκεια ζωής	5475	5471	>0,01
$L^h_w(\mathrm{cm})$		Ολικό μήκος στην εκκόλαψη	0,295	0,204	0,308
$L^b_w(\mathrm{cm})$		Ολικό μήκος στη γέννηση	0,362	0,496	0,371
$L_w^j$ (cm)		Ολικό μήκος στη μεταμόρφωση	3,2	2,506	0,217
$L^p_w(cm)$		Ολικό μήκος στην ενηλικίωση	57,2	60,74	0,062
$L_w^i$ (cm)		Τελικό ολικό μήκος	230	223,8	0,03
$W_w^0(\mathbf{g})$		Νωπό βάρος αβγού	71,8 10 <sup>-5</sup>	54 10-5	0,243
$W^b_w(\mathbf{g})$		Νωπό βάρος στη γέννηση	37 10-5	32 10-5	0,146
$W_w^p(g)$		Νωπό βάρος στην ενηλικίωση	1892	2259	0,194
$W_w^i(g)$		Τελικό νωπό βάρος	103 10 <sup>3</sup>	113 10 <sup>3</sup>	0,097
GSI	20	Γοναδοσωματικός δείκτης	0,05	0,08	0,746

Επίσης, όπως και στο λαβράκι, το μοντέλο αποτύπωσε με ακρίβεια τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά το πρότυπο αύξησης του κρανιού, όπως φαίνεται και από την υψηλή συμφωνία προβλέψεων και δεδομένων (RE < 0,15) (Εικόνα 3-6). Σε αυτά περιλαμβάνονται τόσο δεδομένα αύξησης βάρους από συστήματα εκτροφής υπό μεταβαλλόμενες θερμοκρασίες (Εικόνα 3-6, α-γ), όσο και από πειραματικές συνθήκες με σταθερές θερμοκρασίες (Εικόνα 3-6, δ-ε). Τέλος, απεικονίστηκαν με αρκετή ακρίβεια η αναπαραγωγική απόδοση (RE = 0,29), ο μεταβολικός



ρυθμός (RE = 0,10) και οι μεταβολές στη σωματική σύσταση (< 0,1) υπό διαφορετικές τροφικές συνθήκες (Εικόνα 3-7, α-δ).

Εικόνα 3-6 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου για τον κρανιό (γραμμές) με δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση παραμέτρων (σημεία): α) βάρος συναρτήσει χρόνου από εκτροφή σε κλωβούς (Stavrakidis-Zachou et al., 2021a), β) βάρος συναρτήσει χρόνου (Vargas-Chacoff et al., 2014), γ) βάρος συναρτήσει ολικού μήκους (Vargas-Chacoff et al., 2014), γ) βάρος συναρτήσει ολικού μήκους (Vargas-Chacoff et al., 2014), γ) βάρος συναρτήσει χρόνου υπό διαφορετικές θερμοκρασίες (Stavrakidis-Zachou et al., 2021b), κόκκινο: 24 °C, μπλέ: 29 °C, μάυρο: 34 °C, ε) ολικό μήκος συναρτήσει χρόνου σε προνύμφες (Lika et al., 2014).

Figure 3-6 Comparison of model predictions (lines) for meagre with the data used for the parameter estimation (points):  $\alpha$ ) weight as a function of time in cages (Stavrakidis-Zachou et al., 2021a),  $\beta$ ) weight as a function of time (Vargas-Chacoff et al., 2014),  $\gamma$ ) weight as a function of total length (Vargas-Chacoff et al., 2014),  $\delta$ ) weight as a function of total length (Vargas-Chacoff et al., 2014),  $\delta$ ) weight as a function of total length (Vargas-Chacoff et al., 2014),  $\delta$ ) weight as a function of time at different temperatures (trial of Chapter 2), red: 24 °C, blue: 29 °C, black: 34 °C,  $\varepsilon$ ) total length as a function of time in larvae (Lika et al., 2014).



Εικόνα 3-7 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου για τον κρανιό (γραμμές) με δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση παραμέτρων (σημεία): α) παραγωγή αβγών συναρτήσει βάρους (Mylonas et al., 2013), β) τυπικός μεταβολικός ρυθμός (SMR) σε διαφορετικές θερμοκρασίες (Stavrakidis-Zachou et al., 2021b), γ-δ) σωματική σύσταση, ποσοστά σωματικού λίπους και υγρασίας υπό διαφορετικές ποσότητες τροφές (Jauralde et al., 2021).

Figure 3-7 Comparison of model predictions (lines) for meagre with the data used for the parameter estimation (points):  $\alpha$ ) egg production as a function of weight (Mylonas et al., 2013),  $\beta$ ) standard metabolic rate (SMR) as a function of temperature (Stavrakidis-Zachou et al., 2021b),  $\gamma$ - $\delta$ ) proximate body composition (moisture and total lipids contents) under different feeding levels (Jauralde et al., 2021)

#### 3.4.2 Επαλήθευση μοντέλων

Η επαλήθευση των μοντέλων πραγματοποιήθηκε προσομοιώνοντας την αύξηση των ψαριών χρησιμοποιώντας θερμοκρασιακές μετρήσεις πεδίου και στη συνέχεια συγκρίνοντας τις προβλέψεις (βάρος και κατανάλωση τροφής συναρτήσει χρόνου) με δεδομένα παραγωγής από βιομηχανικές μονάδες.

Τα μοντέλα απέδωσαν καλά με σημαντική ακρίβεια στην πρόβλεψη τόσο της αύξησης του βάρους όσο και της κατανάλωσης τροφής για όλα τα σετ δεδομένων (Εικόνα 3-8, Εικόνα 3-9). Συγκεκριμένα, οι προβλέψεις (γραμμές) του βάρους χαρακτηρίστηκαν από ιδιαίτερη ακρίβεια αφού ταίριαξαν σε μεγάλο βαθμό με τις παρατηρήσεις (σημεία) σε όλα τα σετ δεδομένων ενώ οι μικρές αποκλίσεις από τον μέσο όρο ήταν σε κάθε περίπτωση εντός της παραγόμενης αβεβαιότητας (γκρίζες σκιασμένες περιοχές). Όσον αφορά την κατανάλωση τροφής, τα μοντέλα επίσης αποτύπωσαν το γενικό πρότυπο με αξιοσημείωτη ακρίβεια. Ωστόσο καταγράφηκαν και κάποιες αποκλίσεις, κυρίως στις περιόδους γρήγορης αύξησης του βάρους των ψαριών, στις οποίες τα μοντέλα έτειναν να υποεκτιμήσουν το ρυθμό κατανάλωσης τροφής. Οι παρατηρούμενες αποκλίσεις μπορεί να αποδοθούν τόσο στην αβεβαιότητα του μοντέλου, κυρίως όσον αφορά παραδοχές για τα χαρακτηριστικά της τροφής, όσο και σε ασυνέπειες στα πραγματικά δεδομένα. Για παράδειγμα, το μοντέλο προβλέπει την τροφή που καταναλώνουν τα ψάρια, ενώ αναπόφευκτα οι πραγματικές παρατηρήσεις αφορούν την τροφή που παρέχεται ανά κλωβό ανεξαρτήτως αν αυτή καταναλώνεται όμοια απ΄ όλα τα άτομα ή /και εξ' ολοκλήρου. Το γεγονός ότι υπό συνθήκες εκτροφής η τροφή συχνά είναι πιθανό να παρέχεται σε περίσσεια με αποτέλεσμα ένα ποσοστό της να χάνεται (Garcia-Pineda et al., 2011, Llorens et al., 2017) θα μπορούσε να ερμηνεύσει τις παρατηρούμενες αποκλίσεις, αλλά και να αποτελέσει βάση για περαιτέρω συζήτηση όσον αφορά τη βελτίωση των πρακτικών ταΐσματος στις υδατοκαλλιέργειες.

Σε κάθε περίπτωση, η ομοιότητα μεταξύ προβλέψεων μοντέλων και παρατηρούμενης αύξησης βάρους και κατανάλωσης εκτροφής δείχνει ότι τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν διαθέτουν τους κύριους μηχανισμούς και την προβλεπτική ισχύ που απαιτείται για να προσομοιώσουν συνθήκες πραγματικής εκτροφής, και μάλιστα μπορούν να το κάνουν αξιόπιστα για μεταβαλλόμενες θερμοκρασίες ενός μεγάλου θερμοκρασιακού εύρους (14 – 28 °C). Επίσης, σημειώνεται ότι η λειτουργική απόκριση f που επιλέχθηκε για τις προσομοιώσεις ήταν 0,8 και διατηρήθηκε σταθερή σε όλες τις προσομοιώσεις δίνοντας ικανοποιητικά αποτελέσματα. Η επιλογή αυτή είναι συνεπής με τις κοινές πρακτικές που ακολουθούνται στην υδατοκαλλιέργεια, αφού η τροφή μπορεί να παρέχεται είτε κοντά στο σημείο του κορεσμού είτε να εφαρμόζεται κάποια προσέγγιση περιορισμένου σιτηρεσίου. Το γεγονός ότι τα μοντέλα μπόρεσαν να περιγράψουν επαρκώς δεδομένα από διαφορετικές συνθήκες υποδηλώνει ότι η παραδοχή που έγινε εδώ αποτελεί μια βάσιμη προσέγγιση για συνθήκες εκτροφής.



Εικόνα 3-8 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου (συνεχόμενες γραμμές) με δεδομένα από ιχθυοκλωβούς (σημεία) για το λαβράκι. Το βάρος (αριστερά), και ο ρυθμός κατανάλωσης τροφής (δεζιά) στην πορεία του χρόνου δίνονται για τέσσερις χρονοσειρές δεδομένων (τέσσερις κλωβούς). Η θερμοκρασία απεικονίζεται με διακεκομμένη γραμμή, ενώ οι σκιασμένες περιοχές αντιπροσωπεύουν την αβεβαιότητα του μοντέλου (500 προσομοιώσεις Monte Carlo). Για όλες τις προσομοιώσεις f = 0,8.

Figure 3-8 Comparison of model predictions (solid lines) with observations from cages (points) for E. sea bass. The progression of weight (left) and feeding rate (right) over time is given for four time-series (four cages). Temperature is indicated by the broken lines, while the grey-shaded area represents model uncertainty (500 Monte Carlo simulations). For all simulations f = 0.8.



Εικόνα 3-9 Σύγκριση προβλέψεων μοντέλου (συνεχόμενες γραμμές) με δεδομένα από ιχθυοκλωβούς (σημεία) για τον κρανιό. Το βάρος (αριστερά), και ο ρυθμός κατανάλωσης τροφής (δεξιά) στην πορεία του χρόνου δίνονται για δύο χρονοσειρές δεδομένων (δύο κλωβούς). Η θερμοκρασία απεικονίζεται με διακεκομμένη γραμμή, ενώ οι σκιασμένες περιοχές αντιπροσωπεύουν την αβεβαιότητα του μοντέλου (500 προσομοιώσεις Monte Carlo). Για όλες τις προσομοιώσεις f = 0,8.

Figure 3-9 Comparison of model predictions (solid lines) with observations from cages (points) for meagre. The progression of weight (left) and feeding rate (right) over time is given for two time-series (two cages). Temperature is indicated by the broken lines, while the grey-shaded area represents model uncertainty (500 Monte Carlo simulations). For all simulations f = 0.8.

### 3.4.3 Σωματική σύσταση

Η εκτίμηση παραμέτρων που σχετίζονται με τη μαθηματική περιγραφή της σωματικής σύστασης έδειξε διαφορές στη σύσταση των αποθεμάτων και της δομικής βιομάζας όσον αφορά την περιεκτικότητα τους σε πρωτεΐνες και λίπη. Μάλιστα, παρά τις ποσοτικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών οι τάσεις ήταν παρόμοιες. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι η δομή των αποθεμάτων κυριαρχείται από λίπη σε ποσοστό 77% και 97% για το λαβράκι και τον κρανιό, αντίστοιχα, με πολύ μικρές συνεισφορές από πρωτεΐνες ( $\theta_{LE}$ ,  $\theta_{PrE}$ , Πίνακας 3-3). Αντιθέτως, η δομική βιομάζα απαρτίζεται κυρίως από πρωτεΐνες (63% και 74% αντίστοιχα για τα δύο είδη,  $\theta_{PrV}$ , Πίνακας 3-3) με μικρότερες συνεισφορές από λίπη. Απόρροια των παραπάνω είναι ότι η σωματική σύσταση μεταβάλλεται ανάλογα με την πυκνότητα των αποθεμάτων όπως αποτυπώνεται στην Εικόνα 3-10.



Εικόνα 3-10 Ποσοστά πρωτεϊνών, λιπών και υγρασίας στη βιομάζα του λαβρακιού (α) και του κρανιού (β) συναρτήσει της σχετικής πυκνότητας των αποθεμάτων ( $e = \frac{[E]}{[E_m]}$ ). Οι γραμμές αντιπροσωπεύουν τις προβλέψεις του μοντέλου, ενώ τα σημεία αποτελούν πειραματικές μετρήσεις του Κεφαλαίου 2 σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Figure 3-10 Percentages of proteins, lipids and moisture in the biomass of *E*. sea bass ( $\alpha$ ) and meagre ( $\beta$ ) as a function of the scaled reserve density ( $e = \frac{[E]}{[E_m]}$ ). Lines represent model predictions, while points denote the experimental observations from Chapter 2 under different temperatures.

Ειδικότερα, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των αποθεμάτων σε λίπη, η χαμηλή σχετική αφθονία αποθεμάτων μεταφράζεται σε χαμηλά ποσοστά λίπους στη βιομάζα. Επίσης, λόγω της υψηλότερης ειδικής πυκνότητας των αποθεμάτων σε σχέση με τη βιομάζα (Πίνακας 3-3), η υγρασία σχετίζεται αρνητικά με την αφθονία τους. Αντίθετα, παρατηρούμε ότι όταν μεγιστοποιείται η πυκνότητα των αποθεμάτων, τότε μεγιστοποιείται και η περιεκτικότητα σε λίπη, ενώ ελαχιστοποιούνται τα ποσοστά υγρασίας. Σημειώνεται, ότι οι παραπάνω τάσεις βρίσκονται σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα του Κεφαλαίου 2, τα οποία παρατίθενται επίσης στην Εικόνα 3-10. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι η προσέγγιση που αναπτύχθηκε στην παρούσα διατριβή αποτυπώνει με ακρίβεια μεταβολές στην σωματική σύσταση όσον αφορά τα λίπη και την υγρασία, ενώ μεγαλύτερες αποκλίσεις εμφανίζονται για τις πρωτεΐνες. Επίσης, αποδίδονται και ποιοτικές διαφορές μεταξύ των ειδών, όπως είναι γενικά η χαμηλότερη περιεκτικότητα του κρανιού σε λίπη συγκριτικά με το λαβράκι.

Στην Εικόνα 3-11 παρουσιάζεται η χρονική διάσταση των μεταβολών στη σωματική σύσταση για ένα ψάρι του σεναρίου αναφοράς. Όπως φαίνεται από την κατάσταση του ατόμου στην αρχή της προσομοίωσης, η συνολική του βιομάζα απαρτίζεται επί το πλείστον από δομική βιομάζα, με τα αποθέματα να καταλαμβάνουν ένα μικρό ποσοστό της. Στην περίπτωση εκτροφής υπό καλές τροφικές συνθήκες (f = 1), ο ρυθμός σύνθεσης αποθεμάτων υπερβαίνει το ρυθμό

κατανάλωσης τους με αποτέλεσμα την εναπόθεσή τους ως καινούργια βιομάζα και επακόλουθη αύξηση της σχετικής τους αφθονίας στην πορεία του χρόνου (Εικόνα 3-11, α). Κατά συνέπεια, τα ποσοστά λίπους, και σε μικρότερο βαθμό των πρωτεϊνών, αυξάνονται στην πορεία του χρόνου, ενώ τα ποσοστά υγρασίας μειώνονται. Αρχικά αυτές οι μεταβολές γίνονται με γρήγορο ρυθμό, ο οποίος στη συνέχεια επιβραδύνεται μέχρι τον μηδενισμό του για  $[E] = [E_m]$ . Για το συγκεκριμένο σενάριο, το σημείο αυτό επιτυγχάνεται μετά από περίπου 30 μέρες, πέραν των οποίων η σωματική σύσταση παραμένει σταθερή. Ωστόσο, αυτό το χρονικό σημείο μπορεί να διαφέρει υπό άλλες θερμοκρασιακές συνθήκες ή μεγέθη ψαριών.



Εικόνα 3-11 Προσομοιώσεις σωματικής σύστασης υπό υψηλή (f = 1) και χαμηλή (f = 0,1) διαθεσιμότητα τροφής στο λαβράκι. Οι προβλέψεις του μοντέλου περιλαμβάνουν μεταβολές του ολικού βάρους, της δομικής βιομάζας και των αποθεμάτων στην πορεία του χρόνου (α, γ), καθώς και το πώς αυτές μεταφράζονται σε αλλαγές στα ποσοστά πρωτεϊνών, λιπών και υγρασίας (β, δ).

Figure 3-11 Body composition simulations under high (f = 1) and low (f = 0,1) feeding conditions for *E*. sea bass. Model predictions include changes over time for the total weight, structure, and reservers  $(\alpha, \gamma)$ , as well as how those changes translate to changes in percentages of proteins, lipids, and moisture  $(\beta, \delta)$ . Στην αντίθετη περίπτωση, όταν η διαθεσιμότητα τροφής είναι χαμηλή (f = 0,1), η πυκνότητα των αποθεμάτων μειώνεται, με επακόλουθη μείωση της περιεκτικότητας σε λίπη και πρωτεΐνες και αύξησης των ποσοστών υγρασίας (Εικόνα 3-11, γ-δ). Σημειώνεται επίσης, ότι στο συγκεκριμένο παράδειγμα η χαμηλή διαθεσιμότητα τροφής οδηγεί και σε απώλεια βάρους, αφού ο ρυθμός κατανάλωσης των αποθεμάτων υπερβαίνει το ρυθμό σύνθεσής τους.

Φαίνεται από τα παραπάνω ότι μεταβολές στη σωματική σύσταση ερμηνεύονται από διαφορές στη λειτουργική απόκριση. Ωστόσο, η θερμοκρασία παίζει ένα σημαντικό ρόλο στις χρονικές κλίμακες στις οποίες αυτές εκτυλίσσονται. Στην Εικόνα 3-12 συνοψίζονται τα αποτελέσματα προσομοιώσεων για το συνδυασμό θερμοκρασίας και λειτουργικής απόκρισης. Κατά αντιστοιχία με τις προηγούμενες παρατηρήσεις φαίνεται ότι η διαθεσιμότητα τροφής συσχετίζεται θετικά με την περιεκτικότητα σε λίπη και πρωτεΐνες και αρνητικά με τα ποσοστά υγρασίας. Ωστόσο, φαίνεται ότι η λειτουργική απόκριση καθορίζει τη σωματική σύσταση κυρίως για τις ενδιάμεσες θερμοκρασίες ενώ η επίδρασή της ελαττώνεται καθώς προσεγγίζονται τα όρια θερμικής ανοχής. Συγκεκριμένα, κάτω από ακραίες θερμοκρασίες παρατηρούνται ανεπαίσθητες αλλαγές στη σωματική σύσταση (για τη χρονική κλίμακα των προσομοιώσεων). Αυτό ερμηνεύεται από τη μείωση όλων των βιολογικών ρυθμών όπως η πρόσληψη της τροφής αλλά και η αφομοίωση, κινητοποίηση, και χρήση της ενέργειας σε αυτές τις θερμοκρασίες, κάτι που συνεπάγεται και επιβράδυνση των μεταβολών στην κατάσταση των αποθεμάτων. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι οι μεταβολές της σωματικής σύστασης στα άκρα του εύρους ανοχής απαιτούν περισσότερο χρόνο συγκριτικά με μεταβολές σε ενδιάμεσες θερμοκρασίες.



Εικόνα 3-12 Προσομοίωση περιεκτικότητας βιομάζας σε πρωτεΐνες (α), λίπη (β), και υγρασία (γ) συναρτήσει θερμοκρασίας και λειτουργικής απόκρισης f. Προσομοιώσεις διάρκειας 30 ημερών και για λαβράκι βάρους 200g.

Figure 3-12 Simulation of biomass composition in terms of proteins ( $\alpha$ ), lipids ( $\beta$ ), and moisture ( $\gamma$ ) as a function of temperature and functional response f. The simulations have been performed for E. sea bass of 200g and have a duration of 30 days.

### 3.4.4 Οξεία θερμική καταπόνηση

Οι προσομοιώσεις οξείας θερμικής καταπόνησης έδειξαν ότι το μοντέλο μπορεί να αποτυπώσει τα εδραιωμένα πρότυπα των ανώτερων θερμικών ορίων των ψαριών καθώς αυτά εκτίθενται σε ραγδαία αυξανόμενες θερμοκρασίες (Εικόνα 3-13). Οι παρατηρούμενες διαφορές αποδίδονται τόσο στα μεταβολικά χαρακτηριστικά των ψαριών (δια-ειδικές διαφορές) όσο και στις συνθήκες της προσομοίωσης.



Εικόνα 3-13 Προσομοίωση κρίσιμης θερμοκρασίας για το λαβράκι και τον κρανιό συναρτήσει θερμοκρασίας εγκλιματισμού (α), βάρους (β) και λειτουργικής απόκρισης f (γ).

Figure 3-13 Simulation of critical temperature for E. sea bass and meagre as a function of acclimation temperature ( $\alpha$ ), weight ( $\beta$ ), and functional response f ( $\gamma$ ).

Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία εγκλιματισμού διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στην κρίσιμη θερμοκρασία ( $T_{crit}$ ) που πέτυχαν τα ψάρια (Εικόνα 3-13, α). Σε αντιστοιχία με τη μορφή της εξίσωσης Arrhenius, η  $T_{crit}$  συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία εγκλιματισμού για θερμοκρασίες μέχρι το άνω όριο του εύρους ανοχής ( $T_H$ ), πέραν του οποίου σημείωσε μείωση. Επίσης, προσομοιώσεις με διαφορετικά αρχικά βάρη έδειξαν ότι το μέγεθος του ζώου επιδρά στην ικανότητά του να ανταπεξέλθει σε οξεία θερμική καταπόνηση (Εικόνα 3-13, β). Συγκεκριμένα, τόσο για το λαβράκι όσο και για τον κρανιό η κρίσιμη θερμοκρασία συσχετίστηκε αρνητικά με το βάρος, με υψηλότερες κρίσιμες θερμοκρασίες να επιτυγχάνονται για τα μικρά ψάρια, ενώ προοδευτική μείωση παρατηρήθηκε για τα μεγαλύτερα. Αυτή η τάση απορρέει από την αύξηση του κόστους διατήρησης με την αύξηση του μεγέθους, με επακόλουθο τη μείωση του χρόνου στον οποίο η διαθέσιμη ενέργεια μηδενίζεται  $(\dot{p}_C = \dot{p}_S - \dot{p}_I)$  για μεγαλύτερα ψάρια. Επιπρόσθετα, η λειτουργική απόκριση που είναι μέτρο της κατάστασης των ενεργειακών αποθεμάτων ενός ζώου, συσχετίστηκε θετικά με την κρίσιμη θερμοκρασία. Δεδομένου ότι η ροή κινητοποίησης αποθεμάτων είναι ανάλογη της αφθονίας τους, το παραπάνω πρότυπο εξηγείται από τα μεγαλύτερα ποσά διαθέσιμης ενέργειας που φέρουν τα ψάρια με υψηλότερες τιμές λειτουργικής απόκρισης. Ακόμα, η ένταση της θερμικής καταπόνησης, που εδώ εκφράζεται μέσω του ρυθμού αύξησης της θερμοκρασίας, επηρεάζει επίσης την απόκριση των ψαριών. Αν και η κρίσιμη θερμοκρασία αυτή καθ' αυτή δεν επηρεάζεται (Εικόνα 3-14, α), ο χρόνος στον οποίο επιτυγχάνεται (χρόνος αντίστασης) καθορίζεται από την ένταση της θερμικής καταπόνησης. Συγκεκριμένα, παρατηρείται εκθετική μείωση του χρόνου αντίστασης με τον ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας (Εικόνα 3-14, β), κάτι που πρακτικά σημαίνει ραγδαία μείωση του χρόνου επιβίωσης υπό συνθήκες θερμικής καταπόνησης μεγάλης έντασης. Σημειώνεται επίσης ότι οι τάσεις της κρίσιμης θερμοκρασίας που παρατηρήθηκαν για τις παραπάνω παραμέτρους, εμφανίζουν την ίδια μορφή για τα δύο είδη. Ωστόσο, σε κάθε περίπτωση, οι καμπύλες για τον κρανιό είναι μετατοπισμένες προς τα κάτω, υποδηλώνοντας ότι το είδος φέρει γενικά μικρότερη ικανότητα απόκρισης σε οξεία θερμική καταπόνηση συγκριτικά με το λαβράκι.



Εικόνα 3-14 Προσομοιώσεις της κρίσιμης θερμοκρασίας (α) και του χρόνου αντίστασης (β) συναρτήσει του ρυθμού αύζησης της θερμοκρασίας για τη θερμοκρασία εγκλιματισμού T<sub>ref</sub>.

Figure 3-14 Simulations of critical temperature (a) and the resistance time ( $\beta$ ) as a function of the heating rate, for the acclimation temperature  $T_{ref}$ .

Παρατίθενται τέλος, αποτελέσματα ανάλυσης ευαισθησίας του μοντέλου ως προς τις παραμέτρους του για τις προβλέψεις κρίσιμης θερμοκρασίας. Συνολικά, εννέα παράμετροι βρέθηκε ότι επηρεάζουν σημαντικά την κρίσιμη θερμοκρασία και απεικονίζονται ιεραρχικά στην Εικόνα 3-15, ενώ δεν συμπεριλαμβάνονται αυτές που είχαν αμελητέα επίδραση. Από αυτές, οι  $\dot{v}$ ,  $[E_G]$ , και  $[\dot{p}_M]$  είχαν τη μικρότερη επίδραση στον καθορισμό της κρίσιμης θερμοκρασίας, οι  $\dot{k}_j$ ,  $E_H^j$ , και  $E_b^j$  είχαν ενδιάμεση και οι  $\kappa$ ,  $\{\dot{p}_{A_m}\}$ , και  $T_A$  τη μεγαλύτερη. Το γεγονός ότι το μοντέλο έχει τη μεγαλύτερη ευαισθησία σε μεταβολές της θερμοκρασίας Arthenius  $T_A$  δεν αποτελεί έκπληξη, δεδομένου ότι ο παράγοντας διόρθωσης της θερμοκρασίας επηρεάζει τις ροές τόσο των κινητοποιημένων αποθεμάτων όσο και του κόστους διατήρησης. Φαίνεται ότι αύξηση της  $T_A$  συνεπάγεται μείωση της κρίσιμης θερμοκρασίας, κάτι το οποίο συνάδει και με τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν για τα δύο είδη, αφού ο κρανιός που γενικά έδειξε μικρότερη τιμή  $T_A$ .





Figure 3-15 Model sensitivity analysis for *E*. sea bass (a) and meagre ( $\beta$ ). Bars indicate the relative change (%) of the critical temperature corresponding to a  $\pm 10\%$  change in the values of the DEB parameters.

# 4 Συζήτηση

# 4.1 Πειραματική προσέγγιση

# 4.1.1 Θερμική απόκριση λαβρακιού

Ta αποτελέσματα του πειράματος τοποθετούν το θερμικό βέλτιστο για την αύξηση του λαβρακιού μεταξύ 24 και 28 °C, το οποίο επιβεβαιώνει προηγούμενες μελέτες για το είδος (Islam et al., 2020a, 2020b, Person-Le Ruyet et al., 2004). Συγκεκριμένα, οι επιδόσεις των ψαριών ήταν αξιοσημείωτες τόσο στους 24 °C όσο και στους 28 °C, χωρίς ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των ομάδων όσον αφορά την αύξηση του βάρους και τη μετατρεψιμότητα. Σε αυτές τις θερμοκρασίες, ο απόλυτος ρυθμός αύξησης κυμάνθηκε από 1,1 - 1,3 g d<sup>-1</sup>, ο οποίος εμπίπτει στο εύρος που αναφέρεται για το λαβράκι σε εύκρατα κλίματα. Για ψάρια παρόμοιου μεγέθους, οι Maricchiolo et al. (2011) αναφέρουν ρυθμό αύξησης μεταξύ 0,5 και 1,1 g d<sup>-1</sup> για τους καλοκαιρινούς μήνες (T = 23 - 25°C), ενώ για εκτροφή νεαρών ατόμων στους 25 °C, οι Yilmaz et al. (2020) κατέγραψαν SGR 1,1 d<sup>-1</sup>. Η μελέτη μας έδειξε μια δραματική επιδείνωση των συνολικών επιδόσεων στην υψηλότερη θερμοκρασιακή συνθήκη. Δεδομένου ότι η βιολογική επίδοση σε σχέση με τη θερμοκρασία εμφανίζει καμπανοειδή μορφή, η παρατήρηση ότι ο ρυθμός αύξησης δεν διέφερε μεταξύ των 24 και 28 °C υποδεικνύει ότι αυτές οι θερμοκρασίες βρίσκονται αμφίπλευρα της βέλτιστης θερμοκρασίας, κάτι που ευθυγραμμίζεται με το ευρήματα των Person-Le Ruyet et al. (2004) που προσδιόρισαν τη βέλτιστη θερμοκρασία για νεαρά λαβράκια στους 26-27 °C.

Επιπλέον, οι βιοδείκτες που προσδιορίστηκαν για τις παραπάνω θερμοκρασίες υποδεικνύουν ενδείξεις θερμικής καταπόνησης στους 28 °C. Συγκεκριμένα, στους 24 °C τα επίπεδα κορτιζόλης μειώθηκαν δραματικά μετά τον πρώτο μήνα και παρέμειναν χαμηλά μέχρι το τέλος σε τυπικές τιμές βάσης για το είδος (Azeredo et al., 2017, Samaras et al., 2016b). Τα επίπεδα γαλακτικού οξέος μειώθηκαν επίσης με την πάροδο του χρόνου, ενώ άλλοι μεταβολίτες, όπως τα τριγλυκερίδια, αυξήθηκαν τον δεύτερο μήνα, αλλά παρέμειναν εντός του τυπικού εύρους για το λαβράκι (Islam et al., 2020a, Peres et al., 2014, Sinha et al., 2015). Η τάση ήταν παρόμοια στους 28 °C με την κορτιζόλη και το γαλακτικό οξύ να μειώνονται μετά τον πρώτο μήνα, αλλά σε μικρότερο βαθμό. Η παρουσία σχετικά υψηλών συγκεντρώσεων κορτιζόλης μέχρι το τέλος του πειράματος ενδεχομένως αποτελεί ένδειξη καταπόνησης σε αυτή τη θερμοκρασία, ωστόσο,

παρόμοια επίπεδα κορτιζόλης που ξεπερνούν τα 200 ng ml<sup>-1</sup> έχουν επίσης αναφερθεί κατά τους καλοκαιρινούς μήνες στη Μεσόγειο για μη στρεσαρισμένα άτομα (Samaras et al., 2016b). Παρόλα αυτά, η αυξημένη έκφραση πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος σε σύγκριση με τους 24 °C, αποτελεί σαφή τεκμηρίωση θερμικής καταπόνησης, αφού σχετίζεται άμεσα με την ενεργοποίηση προστατευτικών κυτταρικών μηχανισμών (Tercero & Place, 2020). Είναι ενδιαφέρον ότι παρά τα παραπάνω, η ταχύτητα πέψης συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία, το οποίο αποτελεί ένα καλά καταγεγραμμένο πρότυπο για πολλά είδη ψαριών, όπως ο κρανιός (Kounna et al., 2021), η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) (Azaza & Dhraief, 2020) και η πέστροφα (*Salmo trutta*) (Khan & Seyhan, 2021). Όπως έχει προταθεί από τους De et al. (2016), αυτό θα μπορούσε να ερμηνευθεί ως ένας μηχανισμός των ψαριών να ρυθμίζουν αυξητικά τις γαστρεντερικές τους λειτουργίες προκειμένου να αντιμετωπίσουν την αύξηση των ενεργειακών απαιτήσεων υπό αυξημένες θερμοκρασίες.

Όσον αφορά την υψηλότερη θερμοκρασιακή συνθήκη, οι αναλύσεις έδειξαν κακή κατάσταση της φυσιολογίας των ψαριών, μειωμένες συνολικές επιδόσεις και σημάδια χρόνιας καταπόνησης. Η όρεξη των ψαριών μειώθηκε σημαντικά και η αύξηση σταμάτησε. Παρόμοια μείωση αυξητικών δεικτών έχει αναφερθεί για ιχθύδια μετά από έναν μήνα στους 32 °C (Islam et al., 2020c). Τα επίπεδα καταπόνησης, όσον αφορά την κορτιζόλη, το γαλακτικό οξύ και την έκφραση των HSP παρέμειναν υψηλά μετά τον πρώτο μήνα και μέχρι το τέλος του πειράματος, ενώ οι χαμηλές συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων, και αιμοσφαιρίνης υποδηλώνουν ότι τα ψάρια είχαν μειωμένη μεταβολική και αερόβια ικανότητα. Παρόμοια αύξηση των HSP, της κορτιζόλης και του γαλακτικού οξέος έχει παρατηρηθεί κάτω από υψηλές θερμοκρασίες τόσο στο λαβράκι (Islam et al., 2020b, 2020a), όσο και σε άλλα είδη όπως η τσιπούρα (Sparus aurata) (Feidantsis et al., 2015), η μεγαλόστομη πέρκα (Micropterus salmoides) (Zhang et al., 2017), η πέστροφα της Nότιας Αμερικής (Brycon amazonicus) (de Freitas Souza et al., 2020), και η ιριδίζουσα πέστροφα (Oncorhynchus mykiss) (Topal et al., 2021). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν μεταβολές στους σωματομετρικούς δείκτες και στη σωματική σύσταση. Ο HSI μειώθηκε σε αυτή τη θερμοκρασία με τρόπο παρόμοιο με αυτόν που αναφέρουν οι Islam et al. (2020c), το οποίο υποδηλώνει εξάντληση των ενεργειακών αποθεμάτων. Άλλωστε, ενδεικτικό είναι και ότι η περιεκτικότητα των ψαριών σε λίπη και πρωτεΐνες μειώθηκε με ταυτόχρονη αύξηση της περιεκτικότητας σε υγρασία. Επιπλέον, τα λαβράκια ανέπτυξαν μεγαλοκαρδία. Το φαινόμενο έχει καταγραφεί σε ψάρια ως προσαρμογή στην αύξηση της θερμοκρασίας με στόχο τη βελτίωση της καρδιοαγγειακής απόδοσης (Gamperl et al., 2020, Gamperl & Farrell, 2004), αλλά δεν έχει αναφερθεί προηγουμένως για το λαβράκι. Τέλος, η θνησιμότητα ήταν υψηλή και τα όρια επιβίωσης εμφανίστηκαν ιδιαίτερα στενά γύρω από τους 33 °C. Επομένως, όπως τεκμηριώνεται από την επαγωγή των HSP, την απορρύθμιση μεταβολικών παραμέτρων, όπως τα τριγλυκερίδια, και τα υψηλά επίπεδα δεικτών καταπόνησης, οι κυτταρικοί μηχανισμοί των ζώων βρίσκονταν στα πρόθυρα κατάρρευσης, γεγονός που υποδηλώνει εγγύτητα στα ανώτερα όρια χρόνιας ανοχής.

Σε συμφωνία με τα υπόλοιπα ευρήματα, η μειωμένη αερόβια ικανότητα στην υψηλότερη θερμοκρασία αναδείχθηκε από τη μελέτη του μεταβολικού ρυθμού. Οι ενεργειακές δαπάνες για βασικό μεταβολισμό (SMR) αυξήθηκαν με τη θερμοκρασία με τρόπο που συνάδει με τη βιβλιογραφία (Chabot et al., 2016, Christensen et al., 2020, Claireaux et al., 2006). Ενδεικτικά, οι Claireaux και Lagardère (1999) κατέγραψαν παρόμοιες τιμές SMR, 91 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> στους 25 °C. Ωστόσο, ο μέγιστος μεταβολικός ρυθμός δεν αυξήθηκε με παρόμοιο τρόπο, αλλά παρουσίασε πλατό μετά τους 28 °C, χωρίς περαιτέρω αύξηση στους 33 °C. Αυτό συμπληρώνει τις παρατηρήσεις των Claireaux et al. (2006), οι οποίοι δεν κατέγραψαν σημαντική αύξηση του MMR μεταξύ 26-30 °C, υποδεικνύοντας έτσι περιορισμούς στην ικανότητα του λαβρακιού να επάγει την καρδιαγγειακή του απόδοση πέραν αυτών των θερμοκρασιών. Κατά συνέπεια, το αερόβιο δυναμικό ήταν το χαμηλότερο στους 33 °C, γεγονός που επιβεβαιώνει την εγγύτητα στο άνω άκρο του εύρους θερμικής ανοχής για το λαβράκι.

Τέλος, φαίνεται πως το θερμοκρασιακό ιστορικό (θερμοκρασία εγκλιματισμού) επηρεάζει σημαντικά την απόκριση του λαβρακιού σε οξεία θερμική καταπόνηση. Συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί μέγιστες κρίσιμες θερμοκρασίες 33 και 36,7° C μετά από εγκλιματισμό στους 13 και 25 °C, αντίστοιχα (Ozolina et al., 2016, Yilmaz et al., 2020). Επεκτείνοντας αυτό το πρότυπο, εδώ αναφέρουμε CT<sub>max</sub> έως και 40 °C για ψάρια που εγκλιματίστηκαν στους 33 °C. Επιπλέον, όπως φαίνεται από τις μεταβολές του λόγου απόκρισης εγκλιματισμού (ARR) στην παρούσα μελέτη, η ικανότητα εγκλιματισμού μειώθηκε σε υψηλές θερμοκρασίες με την τιμή του δείκτη να πέφτει από 0,41 μεταξύ 24 - 28 °C σε 0,09 μεταξύ 28 - 33 °C και με συνολική τιμή 0,24 για το εύρος 24 – 33 °C. Αναφορικά, οι Dülger et al. (2012) υπολόγισαν παρόμοιες τιμές ARR 0,25 - 0,27 για θερμοκρασίες εγκλιματισμού μεταξύ 15 - 25 °C. Οι τιμές αυτές είναι συγκρίσιμες με ορισμένα υποτροπικά είδη (Rajaguru, 2002), τα οποία εκτίθενται σε μεγάλες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, όπως το λαβράκι κατά τα πρώτα στάδια της ζωής του στη φύση. Φαίνεται λοιπόν, και σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα ευρήματα, ότι το λαβράκι έχει αξιοσημείωτη ικανότητα να

αντιμετωπίσει ακραία κλιματικά γεγονότα, όπως καύσωνες, παρά την πιθανή μείωση του αναπτυξιακού ρυθμού εξαιτίας χρόνιας θερμικής καταπόνησης.

#### 4.1.2 Θερμική απόκριση κρανιού

Λόγω της σχετικά πρόσφατης εισαγωγής του κρανιού στην υδατοκαλλιέργεια, οι βιβλιογραφικές αναφορές για την εκτροφή του είδους κάτω από σταθερές θερμοκρασίες είναι περιορισμένες. Ωστόσο, πρόσφατες πειραματικές προσπάθειες τοποθετούν τη βέλτιστη θερμοκρασία για αύξηση ιχθυδίων κρανιού μεταξύ 23 - 27 °C, με τους Kounna et al. (2021) να αναφέρουν παρόμοιες τιμές SGR (1,4 - 1,6 % d<sup>-1</sup>) στους 23 και 26 °C. Επιπλέον, υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες μελέτες για την εκτροφή κρανιού υπό μεταβαλλόμενες εποχιακές θερμοκρασίες στη Μεσόγειο. Για παράδειγμα, πιλοτικές προσπάθειες εκτροφής σε ημι - εντατικά συστήματα υποδηλώνουν, όπως και τα ευρήματά της παρούσας διατριβής, ότι οι μεγαλύτεροι αυξητικοί ρυθμοί συμβαίνουν κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (20-25 °C), όπου έγουν αναφερθεί τιμές SGR 1,76% d<sup>-1</sup> (Vargas-Chacoff et al., 2014). Υψηλοί ρυθμοί αύξησης (ημερήσια αύξηση βάρους, 2,55 % d<sup>-1</sup>) έχουν επίσης αναφερθεί για εκτροφή κρανιού στις εκβολές του Νείλου (Αίγυπτος) κάτω από ψηλές ετήσιες θερμοκρασίες (15 - 32 °C) (EL-Shebly et al., 2007), ενώ οι Fountoulaki et al. (2017) αναφέρουν εκθετικούς ρυθμούς αύξησης 0,5 % d<sup>-1</sup> και τιμές μετατρεψιμότητας μεγαλύτερες από δύο για εκτροφή σε θαλάσσιους κλωβούς υπό χαμηλότερες εποχιακές θερμοκρασίες (16 - 26 °C). Επιπλέον, για την περίοδο του καλοκαιριού (25 °C) οι τελευταίοι συγγραφείς αναφέρουν μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής μεταξύ 1,1 και 1,3 % του βάρους των ψαριών, το οποίο ευθυγραμμίζεται με τις παρατηρήσεις της παρούσας μελέτης.

Οι Kır et al. (2017) πιθανολογούν ότι η βέλτιστη θερμοκρασία για ιχθύδια κρανιού είναι μεταξύ 26 - 30 °C αν και η ανάλυσή τους δεν περιείχε δεδομένα αύξησης. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδηλώνουν ότι η βέλτιστη θερμοκρασία είναι πράγματι στην περιοχή των 24 - 29 °C, ωστόσο πιθανότατα βρίσκεται εγγύτερα στο κατώτερο άκρο αυτού του εύρους. Αυτό υποδηλώνεται από τη μικρή, αλλά σταδιακή επιδείνωση των συνολικών επιδόσεων στους 29 °C. Επομένως, φαίνεται ότι αν και ο κρανιός μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί καλά σε υψηλές θερμοκρασίες, η έκθεση σε τέτοιες συνθήκες μακροχρόνια ελαττώνει τη συνολική του επίδοση, κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την ιχθυοκαλλιέργεια στο πλαίσιο της κλιματικής αλλαγής. Η παρατεταμένη θερμική καταπόνηση ήταν ιδιαίτερα έντονη στους 34 °C, όπου η όρεξη των ψαριών μειώθηκε σημαντικά και η αύξηση του βάρους τους σταμάτησε, αντανακλώντας υψηλά

ενεργειακά κόστη για βασικό μεταβολισμό. Αυτό κατέστη σαφές και από αλλαγές στη σωματική σύσταση των ψαριών, όπου παρατηρήθηκε αύξηση της περιεκτικότητας σε υγρασία με αύξηση της θερμοκρασίας, ενώ υπήρξε ταυτόχρονη μείωση των ποσοστών λίπους και πρωτεΐνης, όπως έχει καταγραφεί και για άλλα είδη υπό συνθήκες καταπόνησης (Cai et al., 2020). Μάλιστα, η σωματική σύσταση που καταγράψαμε στους 24 °C είναι παρόμοια με αυτή που αναφέρουν οι Kounna et al. (2021), καθώς επίσης και οι Lozano et al. (2017) στους 23,5 °C. Επιπλέον, η παρατεταμένη έκθεση στους 34 °C οδήγησε σε προοδευτική μείωση του ηπατοσωματικού δείκτη HSI με ταυτόχρονη αύξηση του καρδιοσωματικού δείκτη. Η μείωση του HSI έχει αναφερθεί προηγουμένως ως δείκτης εξάντλησης των ενεργειακών αποθεμάτων σε συνθήκες θερμικής καταπόνησης (Rossi et al., 2017), ενώ η αύξηση του CSI έχει τεκμηριωθεί καλά στα ψάρια, ιδιαίτερα στα σολομοειδή, ως προσαρμοστικός μηχανισμός σε συνθήκες υποξίας και αυξημένων θερμοκρασιών (Gamperl et al., 2020, Gamperl & Farrell, 2004). Συνεπώς, οι αλλαγές στη σωματική σύσταση και τους σωματομετρικούς δείκτες που παρατηρήθηκαν, υποδεικνύουν εξάντληση των αποθεμάτων ενέργειας στους 29 °C με περαιτέρω επιδείνωση στους 34 °C.

Επιπλέον, η θνησιμότητα στην υψηλότερη θερμοκρασιακή συνθήκη οδήγησε σε απώλεια 50% του αρχικού πληθυσμού των ψαριών. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα περισσότερα από τα ψάρια που κατέληξαν έφεραν θρόμβους. Παρότι θρόμβοι στο αίμα που προκαλούν θνησιμότητα δεν έχουν συνδεθεί ρητά με υψηλές θερμοκρασίες, είναι γνωστό ότι τέτοιοι θρόμβοι μπορεί να προκληθούν από έντονη καταπόνηση, ενώ για ορισμένα είδη, έχει καταγραφεί και μια θετική συσχέτιση μεταξύ θερμοκρασίας και πυκνότητας θρομβοκυττάρων (Casillas & Smith, 1977, Tavares-Dias & Oliveira, 2009). Είναι επίσης ενδιαφέρον ότι η θνησιμότητα μειώθηκε σημαντικά όταν η θερμοκρασία ελαττώθηκε κατά 0,5 °C τον τρίτο μήνα υποδεικνύοντας ότι τα όρια επιβίωσης στο ανώτερο άκρο του εύρους ανοχής για τον κρανιό είναι εξαιρετικά στενά και οι παραμικρές αλλαγές θερμοκρασίας μπορούν να έχουν γενικευμένες επιδράσεις στον οργανισμό. Παρόλο που το είδος είναι ευρύθερμο και δεν έχουν αναφερθεί σημαντικές θνησιμότητες για θερμοκρασίες έως και 32 °C (EL-Shebly et al., 2007), η περιορισμένη ικανότητα του κρανιού να ανταπεξέλθει σε υψηλές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις έχει ήδη επισημανθεί αλλού (Kır et al., 2017).

Η μειωμένη αερόβια ικανότητα στην υψηλότερη θερμοκρασία υπογραμμίστηκε περαιτέρω από τις μετρήσεις του μεταβολικού ρυθμού. Ενώ παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση των ενεργειακών αναγκών με τη θερμοκρασία που καταγράφηκε με αύξηση του μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας (SMR), ο μέγιστος μεταβολικός ρυθμός (MMR) δεν παρουσίασε αντίστοιχη αύξηση, με αποτέλεσμα το αερόβιο δυναμικό να σημειώσει μέγιστο στους 24 °C, ενώ μειώθηκε σημαντικά (λιγότερο από το μισό) στους 34 °C. Τα αποτελέσματα μας σχετικά με το μεταβολικό ρυθμό συμφωνούν με τα ευρήματα των Kır et al. (2017), οι οποίοι προτείνουν σαν βέλτιστη θερμοκρασία τους 26 – 30 °C για ιχθύδια κρανιού. Ωστόσο, στη μελέτη τους αναφέρουν πολύ υψηλότερες τιμές κατανάλωσης οζυγόνου. Συγκεκριμένα, αναφέρουν 410, 618 και 642 mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> στους 22, 26 και 30 °C, αντίστοιχα, τα οποία είναι διπλάσια από αυτά τις παρούσας μελέτης. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί σε πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου και του μικρού μεγέθους των ψαριών που χρησιμοποίησαν (3,4 g), αφού ο SMR εξαρτάται από το μέγεθος και το στάδιο της ζωής του οργανισμού, ή το πρωτόκολλο μέτρησης. Επιπλέον, οι Kır et al. (2017) χρησιμοποίησαν στατικό αναπνευσιόμετρο και κατέγραψαν την κατανάλωση οξυγόνου για μία μόνο ώρα, παράγοντες που τείνουν να υπερεκτιμούν τον μεταβολικό ρυθμό (Chabot et al., 2016). Αντιθέτως, ποσοστά παρόμοια με αυτά που αναφέρουμε για τους 24 °C έχουν καταγραφεί στους 21,5 °C (99 και 245 mg kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> για SMR και MMR, αντίστοιχα) για μεγαλύτερα ψάρια (82,1 g) και παρόμοια πειραματικά πρωτόκολλα (Peixoto et al., 2017).

Όσον αφορά τις αιματολογικές, βιοχημικές, ενζυματικές και ορμονικές μεταβλητές, μπορούν να εξαχθούν παρόμοια συμπεράσματα. Τα ψάρια στην υψηλότερη θερμοκρασία παρουσίασαν αναιμία (χαμηλό αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνη), ελαττωμένη μεταβολική ικανότητα (τριγλυκερίδια, γοληστερόλη) και αυξημένους δείκτες αναερόβιου μεταβολισμού (γαλακτικό οξύ) και καταπόνησης (γλυκόζη, κορτιζόλη), με τιμές πάνω από οποιαδήποτε τιμή αναφοράς για τον κρανιό (Fanouraki et al., 2011, Samaras et al., 2016b), υποδεικνύοντας ότι τα ψάρια βρίσκονταν υπό γρόνια καταπόνηση και ενεργειακή εξάντληση καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα επίπεδα των μεταβολιτών στους 24 °C δεν έδειξαν σημάδια καταπόνησης, παρουσιάζοντας συγκρίσιμες τιμές με εκείνες που έχουν αναφερθεί σε συνθήκες ελέγχου (Chatzifotis et al., 2018). Συγκεκριμένα, οι τελευταίοι συγγραφείς αναφέρουν συγκεντρώσεις πλάσματος 6,2, 2,9 και 8 mmol L<sup>-1</sup> στους 20 °C για γλυκόζη, χοληστερόλη και τριγλυκερίδια, αντίστοιγα, οι οποίες είναι παρόμοιες με αυτές που βρέθηκαν σε αυτή τη μελέτη. Επίσης, οι συγκεντρώσεις κορτιζόλης πλάσματος στους 24 °C κυμάνθηκαν στις τυπικές τιμές (0,1-3,2 ng ml-<sup>1</sup>) που αναφέρουν οι Samaras et al. (2016) επιβεβαιώνοντας την απουσία θερμικής καταπόνησης σε αυτή τη θερμοκρασία. Μάλιστα, οι τιμές αυτές καταγράφηκαν μετά τον πρώτο μήνα του πειράματος, υποδηλώνοντας έτσι το σημαντικό χρονικό διάστημα που απαιτείται για τον πλήρη

εγκλιματισμό των ψαριών σε υψηλές θερμοκρασιακές συνθήκες. Αξιοσημείωτο είναι ότι στους 29 °C, τα ψάρια παρουσίασαν ελαφρώς υψηλότερες συγκεντρώσεις κορτιζόλης και γαλακτικού οξέος σε σχέση με τους 24 °C, υποδεικνύοντας έτσι ενδιάμεσα επίπεδα καταπόνησης.

Όσον αφορά τη γονιδιακή έκφραση, η HSP90 δεν διέφερε μεταξύ θερμοκρασιών, αλλά η έκφραση του γονιδίου HSP70 σημείωσε μείωση στην υψηλότερη θερμοκρασία συγκριτικά με τις υπόλοιπες συνθήκες στον σπλήνα, αλλά όχι στο ήπαρ. Επιπλέον, η έκφραση του GR μειώθηκε στους 34 °C τόσο στο ήπαρ όσο και στον σπλήνα, ενώ αυξήθηκε στους 29 °C, αλλά μόνο στον σπλήνα. Η επαγωγή της έκφρασης των HSP και GR σε σύγκριση με τους 24 °C βρίσκεται σε συμφωνία με το εδραιωμένο πρότυπο απόκρισης στην καταπόνηση (Faught & Vijayan, 2016). Όπως όμως και στα ευρήματά μας, οι Antonopoulou et al. (2020) δεν εντόπισαν διαφορές στα επίπεδα της HSP90 σε ιστούς κρανιού (καρδιά, συκώτι, μυς, έντερο) στην περιοχή των 17-26 °C. Επιπλέον, αναφέρουν αυξανόμενα επίπεδα HSP70 συναρτήσει της θερμοκρασίας στο έντερο, αλλά όγι στο ήπαρ, στο οποίο κατέγραψαν παρόμοιες τιμές μεταξύ 20-26 °C, αλλά γαμηλότερες στους 17 °C. Μαζί με τα ευρήματά μας, αυτό δείχνει ότι όντως η ικανότητα του κρανιού για ανοδική ρύθμιση ('upregulation') είναι περιορισμένη σε αυτό το θερμοκρασιακό εύρος. Το συμπέρασμα ενισχύεται, επίσης, από τη μειωμένη έκφραση της HSP70, μόνο στον σπλήνα, και του GR στην υψηλότερη θερμοκρασία, που υποδηλώνει υπολειτουργία των προστατευτικών μηγανισμών. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγουν καταγραφεί και σε πειράματα έκθεσης σε θερμοκρασίες πέραν του ορίου ανοχής στο Ιαπωνικό πλατύψαρο (Paralichthys olivaceus). Συγκεκριμένα, τα πειράματα έδειξαν μια αρχική αύξηση της HSP70 που ακολουθήθηκε από μειωμένη έκφραση τις επόμενες εβδομάδες, λόγω κατάρρευσης των κυτταρικών αμυντικών μηγανισμών (Kim et al., 2019).

Τέλος, εντοπίστηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ της μέγιστης κρίσιμης θερμοκρασίας (CT<sub>max</sub>) και της θερμοκρασίας εγκλιματισμού, όπως άλλωστε έχει παρατηρηθεί και σε άλλα ψάρια (Penny & Pavey, 2021, Sakurai et al., 2021, Yilmaz et al., 2020, Zhou et al., 2019). Τα ψάρια παρουσίασαν αξιόλογη ικανότητα απόκρισης σε οξεία θερμική καταπόνηση, καθώς και ικανότητα θερμικού εγκλιματισμού μεταξύ 24 - 29 °C. Σε συνδυασμό με τα φυσιολογικά ευρήματα, αυτό υποδηλώνει ότι στα πλαίσια της κλιματικής αλλαγής, ο κρανιός ίσως είναι σε θέση να αντιμετωπίσει ακραία κλιματικά γεγονότα, όπως καύσωνες, παρά τη μείωση των συνολικών του επιδόσεων εξαιτίας της χρόνιας θερμικής καταπόνησης. Για τον κρανιό, η μόνη έως τώρα

Kir et al. (2017). Για ιχθύδια 3 g, οι συγγραφείς κατέγραψαν  $CT_{max}$  35,91 °C σε θερμοκρασία εγκλιματισμού 26 °C και  $CT_{max}$  36,98 °C σε θερμοκρασία εγκλιματισμού 30 °C. Στη μελέτη μας καταγράψαμε  $CT_{max}$  33,9 °C για εγκλιματισμό στους 24 °C, το οποίο ταιριάζει απόλυτα κάτω από αυτό των Kir et al. (2017) στους 26 °C, λαμβάνοντας υπόψη τη θετική συσχέτιση  $CT_{max}$  και της θερμοκρασίας εγκλιματισμού (Ern et al., 2016). Επιπρόσθετα, και συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα των Kir et al. (2017) στους 30 °C, καταγράψαμε  $CT_{max}$  37,5 °C για εγκλιματισμό στους 29 °C, η οποία από όσα γνωρίζουμε, είναι η υψηλότερη που έχει καταγραφεί ποτέ για το είδος.

# 4.2 Μαθηματική μοντελοποίηση

### 4.2.1 Μελέτη των ενεργειακών ισοζυγίων

Η θεωρία Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου (DEB) δίνει έμφαση στους μηγανισμούς. Υιοθετεί ένα ενιαίο πλαίσιο για να περιγράψει δυναμικές μεταβολές στο ενεργειακό ισοζύγιο των οργανισμών βασιζόμενο σε απλούς κανόνες για τη ροή ενέργειας στο εσωτερικό τους, το οποίο με τη σειρά του στηρίζεται σε θεμελιώδεις θερμοδυναμικές αρχές (Kooijman, 2010). Συνέπεια αυτού είναι ότι οι κεντρικοί μηχανισμοί, οι εξισώσεις και η βασική αρχιτεκτονική ενός μοντέλου DEB θα είναι η ίδια για όλους τους οργανισμούς ανεξαρτήτως μεγέθους, από τα βακτήρια μέγρι τα θηλαστικά. Φυσικά, επιπλέον παραδοχές και προσαρμογές είναι απαραίτητες για να αποτυπωθούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και οι συμπεριφορές οργανισμών με ριζικά διαφορετικές στρατηγικές ζωής. Γι' αυτό το λόγο άλλωστε έχει αναπτυχθεί και ένα πλήθος μοντέλων που αποτελούν προεκτάσεις του τυπικού DEB μοντέλου όπως αυτά για τα έντομα (Gergs & Baden, 2021), τα φυτά (Venolia et al., 2020) και τις μελέτες οικοτοξικολογίας (Vlaeminck et al., 2021). Οι προεκτάσεις αυτές γίνονται μεταξύ άλλων με την εισαγωγή επιπλέον βοηθητικών παραμέτρων, την περιγραφή παραπάνω του ενός αποθεμάτων και δομικών βιομαζών και την τροποποίηση ενεργειακών στρατηγικών για τα επιμέρους αναπτυξιακά στάδια (Livanou et al., 2019, Maino et al., 2017). Ωστόσο, η ουσία αυτού του ενιαίου πλαισίου παραμένει η ίδια. Οι μεταβολικές διαδικασίες, τα αναπτυξιακά χαρακτηριστικά, και το ενεργειακό ισοζύγιο όλων των οργανισμών μπορεί να περιγραφεί από τους ίδιους κεντρικούς μηχανισμούς χρησιμοποιώντας έναν σχετικά μικρό αριθμό βασικών παραμέτρων. Ισχυρή συνέπεια των παραπάνω είναι ότι τα βιοενεργητικά χαρακτηριστικά των οργανισμών μπορούν να συγκριθούν βάσει διαφορών στις

μεταξύ τους βασικές παραμέτρους, κάτι που κάνει τη θεωρία ιδιαίτερα ελκυστική για συγκριτικές μελέτες και την διαχωρίζει από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα εμπειρικά μοντέλα (Kooijman & Augustine, 2022, Kooijman & Lika, 2014a).

Οι τιμές των παραμέτρων είναι συγκεκριμένες για κάθε άτομο και καθορίζονται γενετικά. Κατά την εκτίμηση των DEB παραμέτρων ενός είδους, μια υπονοούμενη αλλά σημαντική παραδοχή είναι ότι αυτές εκφράζουν το 'μέσο' άτομο του είδους. Αυτό απορρέει από το γεγονός ότι τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται προέρχονται από πολλές και ετερογενείς πηγές και άρα αποτελούν έναν μέσο όρο των χαρακτηριστικών που μελετώνται. Φυσικά, για κάθε φαινοτυπικό χαρακτηριστικό θα υπάρχει κάποιος βαθμός ποικιλομορφίας μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους, ο οποίος βρίσκεται υπό γενετικό και περιβαλλοντικό έλεγγο (McKenzie et al., 2021) και άρα είναι εύλογο οι τιμές των παραμέτρων να φέρουν επίσης έναν βαθμό ποικιλομορφίας. Κατά την επαλήθευση των μοντέλων της παρούσας διατριβής αναπτύχθηκε ένας τρόπος εισαγωγής μιας τέτοιας ποικιλομορφίας στις προβλέψεις των μοντέλων υποθέτοντας έναν βαθμό μεταβλητότητας σε κάποιες από τις παραμέτρους που σχετίζονται με δομικά χαρακτηριστικά των ειδών που μελετήθηκαν (Koch & De Schamphelaere, 2020, Stavrakidis-Zachou et al., 2019). Εφαρμογή αυτής της μεθόδου σε προσομοιώσεις σε ψάρια έχει δείξει ότι η εκτιμώμενη αβεβαιότητα στις προβλέψεις του μοντέλου είναι αντίστοιχης κλίμακας με τις τυπικές αποκλίσεις που παρατηρούνται σε ιχθυοπληθυσμούς για μεγέθη, όπως το βάρος και η κατανάλωση τροφής (Stavrakidis-Zachou et al., 2021b). Μια αντίστοιχη προσέγγιση έχει χρησιμοποιηθεί πρόσφατα σε DEB μοντέλα εμπορικά σημαντικών εντόμων για τη μελέτη διακυμάνσεων στο χρόνο ανάπτυξης των προνυμφικών τους σταδίων με απώτερο στόχο τη βελτίωση της εκτροφής τους (Gergs & Baden, 2021). Επομένως, η προσέγγιση που αναπτύχθηκε εδώ αποτελεί όχι μόνο έναν βάσιμο τρόπο έκφρασης της παρατηρούμενης ενδοειδικής ποικιλότητας, αλλά ενδεγομένως έχει και άλλες χρήσιμες εφαρμογές οι οποίες ξεφεύγουν του σκοπού της διατριβής, αλλά χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Για παράδειγμα, κατά τη διεξαγωγή πειραμάτων είναι επιθυμητό οι οργανισμοί να έχουν μικρή μεταβλητότητα στα χαρακτηριστικά που μελετώνται (Mitchell et al., in press., Osenberg et al., 1994). Επομένως, η μελέτη των τροφικών και περιβαλλοντικών συνθηκών που επηρεάζουν τις διακυμάνσεις στα διάφορα χαρακτηριστικά ενδέχεται να οδηγήσει σε διαχειριστικές προτάσεις που την ελαχιστοποιούν, βελτιώνοντας έτσι την ποιότητα των πειραμάτων.

Εκ φύσεως, οι ενδο-ειδικές διαφορές μεταξύ ατόμων είναι μικρές σε σχέση με τις διαειδικές (Buoro et al., 2016). Επομένως, παραμένει σημαντικό να μιλάμε για τις τιμές των DEB παραμέτρων που σχετίζονται με το είδος ως μέσο όρο των τιμών των ατόμων του συγκεκριμένου είδους. Μόλις εκτιμηθούν αυτές οι παράμετροι, είναι εφικτό να υπολογιστούν πολλές ιδιότητες, ακόμα κι αν αυτές δεν έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την παραμετροποίηση του είδους ή δεν είναι εφικτό να μετρηθούν λόγω πρακτικών δυσκολιών ή διότι αποτελούν αφηρημένες μεταβλητές. Η σύγκριση τόσο των παραμέτρων διαφορετικών ειδών όσο και των ιδιοτήτων που προκύπτουν από αυτές αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο μελέτης το οποίο και χρησιμοποιείται εδώ για συγκρίσεις των βιοενεργητικών προφίλ των δύο ειδών που μελετήθηκαν (Kooijman & Augustine, 2022, Kooijman & Lika, 2014a, Marn & Kooijman, 2022). Συγκεκριμένα, οι μεγαλύτερες διαφορές στις βασικές παραμέτρους των δύο ειδών εντοπίστηκαν στα  $\kappa$ , z, και  $[E_G]$  που ήταν υψηλότερα στον κρανιό και στο [pm] που ήταν υψηλότερο στο λαβράκι. Άμεση απόρροια αυτών των παραμέτρων είναι ότι ο καταμερισμός της ενέργειας στις επιμέρους μεταβολικές λειτουργίες παρουσιάζει σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών (Εικόνα 4-1). Μάλιστα, αυτές οι διαφορές όχι μόνο διατηρούνται κατά την ανάπτυξη τους, αλλά εμφανίζουν συνέπεια και με τα γενικά χαρακτηριστικά και τις στρατηγικές ζωής που είναι γνωστές για αυτά (Duncan et al., 2013, Vázquez & Muñoz-Cueto, 2014).

Ειδικότερα, το λαβράκι δαπανά μεγάλο μέρος της ενέργειάς του σε αναπτυξιακές λειτουργίες, αυτές δηλαδή που σχετίζονται με την γενετική ωρίμανση και τη διατήρησή του ( $\dot{p}_R$  και  $\dot{p}_J$ ). Επίσης, συγκριτικά με τον κρανιό η ενέργεια που καταναλώνεται για τη σωματική του διατήρηση ( $\dot{p}_S$ ) καταλαμβάνει μεγαλύτερο μέρος του συνολικού του ενεργειακού ισοζυγίου. Κατά συνέπεια η ενέργεια που απομένει διαθέσιμη για αύξηση είναι σημαντικά μικρότερη στο λαβράκι, κάτι που ισχύει τόσο σε μικρά όσο και μεγαλύτερα μεγέθη ψαριών. Αυτή η παρατήρηση όχι μόνο επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ο κρανιός εμφανίζει σημαντικά ταχύτερους αυξητικούς ρυθμούς, αλλά υποδεικνύει και τα υψηλά ενεργειακά κόστη στο λαβράκι ως τον παράγονταπου καθορίζει τον μικρότερο αυξητικό ρυθμό του. Άλλωστε, όπως φαίνεται και από τις διαφορές στις αναπαραγωγικές στρατηγικές τους, το λαβράκι φτάνει τη γενετική ωρίμανση ταχύτερα και σε μικρότερα μεγέθη (Duncan et al., 2013, Vázquez & Muñoz-Cueto, 2014). Είναι λοιπόν εύλογο ότι για να το πετύχει αυτό πρέπει να κατανέμει περισσότερη ενέργεια σε διαδικασίες ωρίμανσης σε σχέση με τον κρανιό. Επιπλέον, οι παραπάνω τάσεις είναι και ενδεικτικές των διαφορών στον τρόπο ζωής ('lifestyle') των δύο ειδών αφου το λαβράκι χαρακτηρίζεται από πιο έντονα κολυμβητικά πρότυπα, κινητικότητα, και γενικότερα πιο ενεργή συμπεριφορά από τον κρανιό. Οι παραπάνω συλλογισμοί αποτελούν μια ενθαρρυντική εφαρμογή του πως η μελέτη των βιοενεργητικών ισοζυγίων μπορεί να περιγράψει διαφορετικά χαρακτηριστικά ανάπτυξης και αύξησης των ειδών, αλλά και πως μπορεί να ερμηνεύσει τις παρατηρούμενες διαφορές στη βάση των στρατηγικών αξιοποίησης της διαθέσιμης ενέργειας όπως έχει γίνει και σε άλλα είδη (Kooijman & Augustine, 2022, Marn & Kooijman, 2021).



Εικόνα 4-1 Καταμερισμός της κινητοποιημένης ( $\dot{p}_{c}$ ) ροής ενέργειας ( $J d^{-1}$ ) στις επιμέρους διαδικασίες της σωματικής διατήρησης ( $\dot{p}_{s}$ ), διατήρησης της ωρίμανσης ( $\dot{p}_{J}$ ), αύζησης ( $\dot{p}_{G}$ ), και ωρίμανσης/αναπαραγωγής ( $\dot{p}_{R}$ ) κατά τη γέννηση και την ενηλικίωση για f = 1 και  $T = 20^{\circ}C$ .

Figure 4-1 Allocation of the mobilized ( $\dot{p}_C$ ) energy flux ( $J d^{-1}$ ) to the processes of somatic maintenance ( $\dot{p}_S$ ), maturity maintenance ( $\dot{p}_I$ ), growth ( $\dot{p}_G$ ), and maturation/reproduction ( $\dot{p}_R$ ) at birth and puberty for f = 1 and  $T = 20^{\circ}C$ .

Ένα άλλο παράδειγμα δια-ειδικών διαφορών είναι αυτές που αναλύθηκαν με το υπομοντέλο της σωματικής σύστασης. Όπως τεκμηριώθηκε από τα πειραματικά δεδομένα και στη συνέχεια αποτυπώθηκε στις προσομοιώσεις του μοντέλου, η σωματική σύσταση του κρανιού και του λαβρακιού διαφέρουν, με το πρώτο να χαρακτηρίζεται από χαμηλά επίπεδα λιπών και υψηλά επίπεδα υγρασίας (Kounna et al., 2021, Mastoraki et al., 2020). Βιοενεργητικά, αυτές οι διαφορές ερμηνεύτηκαν με διαφορετικές τιμές των παραμέτρων που καθορίζουν τη σύσταση των αποθεμάτων και της δομικής βιομάζας τους, καθώς και αυτών που καθορίζουν τη μέγιστη

πυκνότητα των αποθεμάτων. Συγκεκριμένα, η συγκριτικά χαμηλότερη περιεκτικότητα του κρανιού σε λίπη οφείλεται στο συνδυασμό τόσο χαμηλότερης μέγιστης πυκνότητας αποθεμάτων (που είναι ανάλογη του μέγιστου ρυθμού αφομοίωσης,  $[E_m] = \{\dot{p}_{Am}\}/\dot{v}$ ) όσο και της φτωχότερης σε λίπη περιεκτικότητας της δομικής του βιομάζας (θ<sub>LV</sub>). Η διαφορά μπορεί μάλιστα να ερμηνευτεί από τις μικρότερες ανάγκες του κρανιού να διατηρεί μεγάλα ποσά αποθηκευμένης ενέργειας, που με τη σειρά του είναι απόρροια του τρόπου ζωής και της αναπαραγωγικής στρατηγικής του. Όπως φάνηκε άλλωστε και από την Εικόνα 4-1, τα κόστη διατήρησης (σωματικής και ωρίμανσης) είναι μεγαλύτερα στο λαβράκι, και επομένως χρειάζεται περισσότερη αποθηκευμένη ενέργεια για να ανταπεξέλθει σε περιόδους μειωμένης αφθονίας τροφής ή υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων (όπως περιόδους μεταναστεύσεων και αναπαραγωγής) σε σχέση με τον κρανιό. Βλέπουμε λοιπόν, πως δια-ειδικές διαφορές σε τιμές αφηρημένων μεταβλητών, όπως αποθέματα και δομική βιομάζα, μπορούν να μεταφραστούν τελικά σε διαφορές μετρήσιμων μεγεθών όπως περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και λίπη. Αυτό καθίσταται εφικτό επειδή χρησιμοποιείται ένα ενοποιημένο πλαίσιο μοντελοποίησης που βασίζεται σε ρεαλιστικούς φυσιολογικούς μηχανισμούς. Ως εκ τούτου, οι αφηρημένες μεταβλητές έχουν άμεση συνάφεια με πραγματικές βιολογικές διεργασίες και μεγέθη, ακόμα και αν οι σχέσεις μεταξύ τους δεν είναι διαισθητικά εμφανείς (Kooijman, 2017). Μάλιστα, βάσει της επιχειρηματολογίας που παρατέθηκε στις προηγούμενες παραγράφους αντίστοιχες συγκρίσεις θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν και με άλλα είδη. Αν και αυτό ξεφεύγει του σκοπό της διατριβής, καθώς προϋποθέτει επιπλέον μοντελοποίηση ειδών, θα αποτελούσε μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση στο μέλλον για την αναζήτηση προτύπων στις παραμέτρους που επηρεάζουν τη σωματική σύσταση.

#### 4.2.2 Θερμική ανοχή

Στην παρούσα διατριβή, η επίδραση της θερμοκρασίας στον μεταβολισμό ποσοτικοποιήθηκε με τον διορθωτικό παράγοντα της εξίσωσης Arrhenius. Από τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν προέκυψε ότι η βέλτιστη θερμοκρασία είναι ελαφρώς υψηλότερη για το λαβράκι, κάτι που επιβεβαιώθηκε και από τα πειραματικά ευρήματα, ενώ παρόμοια τάση έδειξαν και οι προσομοιώσεις για τα ανώτερα θερμικά όρια υπό οξεία θερμική καταπόνηση. Από τις βασικές DEB παραμέτρους, αυτές που επηρεάζονται πρωτίστως από τη θερμοκρασιακή διόρθωση είναι ο ρυθμός αφομοίωσης { $\dot{p}_{A_m}$ } και ο ρυθμός σωματικής διατήρησης [ $\dot{p}_M$ ]. Επιπλέον, αυτές οι παράμετροι αντιπροσωπεύουν σημαντικές ροές ενέργειας για τον οργανισμό. Στην πρώτη

περίπτωση σχετίζονται με τον τρόπο και την αποδοτικότητα ενσωμάτωσης ενέργειας από το περιβάλλον (Koch & De Schamphelaere, 2020), ενώ στη δεύτερη αντανακλούν ενεργειακές δαπάνες που εξαρτώνται από την πολυπλοκότητα και τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά (όπως σχήμα, διαστάσεις, αναλογία όγκου-επιφάνειας, κ.α) του οργανισμού (Lika et al., 2019) και άρα καθορίζουν την κατανομή ενέργειας στις επιμέρους διεργασίες. Από αυτήν την άποψη, οι [ $p_m$ ] και { $p_{A_m}$ } αναμένεται όχι μόνο να αντικατοπρίζουν διαφορές στη θερμική ευαισθησία των ειδών, αλλά και διαφορές στις ενεργειακές στρατηγικές τους όπως αποτυπώθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο (Εικόνα 4-1). Οι Freitas et al. (2010) μελέτησαν τα θερμικά όρια ψαριών του Βορείου Ατλαντικού και επιχείρησαν να τα συσχετίσουν με βασικές παραμέτρους μοντέλων DEB. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν μια θετική συσχέτιση των [ $p_M$ ] και του { $p_{A_m}$ } με τη βέλτιστη θερμοκρασία για κάθε είδος, κάτι που φαίνεται ότι επιβεβαιώνουν και τα είδη της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, αν και οι ποσοτικές διαφορές στα θερμικά όρια, αλλά και στις παραμέτρους μεταξύ λαβρακιού και κρανιού είναι μικρές, όταν τα συγκρίνουμε με είδη που ζουν σε ψυχρότερα περιβάλλοντα, φαίνεται ότι εμπίπτουν στο ίδιο πρότυπο που κατέγραψαν οι Freitas et al. (2010) (Εικόνα 4-2).



Εικόνα 4-2 Ο ρυθμός σωματικής διατήρησης,  $[\dot{p}_M]$ , και ο μέγιστος ρυθμός αφομοίωσης,  $\{\dot{p}_{A_m}\}$ , συναρτήσει της βέλτιστης θερμοκρασίας για διαφορετικά ψάρια. Με μαύρο δίνονται τιμές για διάφορα είδη από τους Freitas et al. (2010) και με κόκκινο οι εκτιμημένες τιμές για το λαβράκι και τον κρανιό.

Figure 4-2 The somatic maintenance rate,  $[\dot{p}_M]$ , and the maximum assimilation rate,  $\{\dot{p}_{A_m}\}$ , as a function of the optimum temperature for different fish. Various fish species from the Freitas et al.(2010) study are represented with the black colour while the values for E. sea bass and meagre estimated in the present study are given in red.

Σύμφωνα με αυτό, τόσο ο ρυθμός σωματικής διατήρησης όσο και ο ρυθμός αφομοίωσης φαίνεται να μειώνονται με την αύξηση της βέλτιστης θερμοκρασίας. Αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι είδη που ζουν σε υψηλά θερμοκρασιακά περιβάλλοντα και άρα έχουν ταχύτερο μεταβολισμό, αντισταθμίζουν τα υψηλά μεταβολικά τους κόστη με χαμηλούς ρυθμούς σωματικής διατήρησης (ανά μονάδα όγκου), κάτι όμως που φέρει το αντίτιμο ότι δεν μπορούν να υποστηρίξουν μεγάλους ρυθμούς αφομοίωσης (ανά μονάδα επιφάνειας) (Forster et al., 2012, Wootton et al., 2022). Αντιθέτως, οι οργανισμοί που ζουν σε ψυχρότερα περιβάλλοντα μπορούν να υποστηρίξουν μεγάλους ρυθμούς αφομοίωσης, επειδή δύνανται να πληρώσουν το αντίτιμο του υψηλού κόστους διατήρησης (Atkinson & Sibly, 1997, Klompmaker et al., 2016). Μια ενδιαφέρουσα απόρροια αυτού του συλλογισμού είναι ότι μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη θερμική ευαισθησία ενός οργανισμού λαμβάνοντας υπόψη έναν μικρό αριθμό των βασικών του παραμέτρων, ακόμα και αν η πληροφορία που χρησιμοποιήθηκε κατά την παραμετροποίηση σχετικά με τις θερμικές του αποκρίσεις είναι πολύ περιορισμένη (Freitas et al., 2010). Φυσικά, λόγω της πολυπλοκότητας των σχέσεων μεταξύ διαδικασιών πρόσληψης και χρήσης ενέργειας οι παραπάνω γενικεύσεις απαιτούν περαιτέρω επαλήθευση και ως εκ τούτου, παρατίθενται με επιφύλαξη αλλά και σαν πεδίο περαιτέρω έρευνας. Ωστόσο, φαίνεται πως η χρήση τέτοιου είδους συσχετίσεων αποτελεί μια υποσχόμενη προσέγγιση για τη μελέτη και σύγκριση της θερμικής ευαισθησίας διαφορετικών ειδών.

Ακόμα, η σύγκριση των παραμέτρων Arrhenius αυτών καθ' αυτών φαίνεται ότι προσφέρει έναν επιπλέον τρόπο μελέτης θερμικής ευαισθησίας. Ο Kooijman (2010) διατυπώνει το επιχείρημα ότι οι οργανισμοί που διαβιούν σε περιβάλλοντα με μεγάλες και απότομες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις αναγκάζονται να χρησιμοποιούν ένζυμα που λειτουργούν καλά σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών με φυσικό επακόλουθο να εμφανίζουν σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες Arrhenius. Τέτοια είδη περιλαμβάνουν οργανισμούς που ζουν στην παράκτια και διαπαλιρροιακή ζώνη, όπου καταγράφονται μεγάλες ημερήσιες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις (Kon et al., 2020, Martínez et al., 2015). Απεναντίας, οργανισμοί που ζουν σε πιο σταθερά θερμοκρασιακά περιβάλλοντα, όπως τα βενθικά και τα πελαγικά είδη (Kooijman, 2010) ή ομοιόθερμοι οργανισμοί όπως θηλαστικά και πτηνά (Kooijman & Lika, 2014b, Teixeira, 2016), συχνά χαρακτηρίζονται από υψηλότερες τιμές της θερμοκρασίας Arrhenius. Παρόμοιοι ισχυρισμοί γίνονται και από την υπόθεση της κλιματικής μεταβλητότητας ('Climate Variability Hypothesis') (Sunday et al., 2019) η οποία προβλέπει την εξέλιξη 'θερμικής γενικότητας', δηλαδή μεγάλου εύρους ανοχής, κάτω από περιβάλλοντα με υψηλές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις και θερμική εξειδίκευση', δηλαδή υψηλής βιολογικής απόδοσης, αλλά σε μικρός εύρος ανοχής, για θερμοκρασιακά σταθερά περιβάλλοντα (Shah et al., 2021, Wang et al., 2019). Τα ευρήματα της παρούσας διατριβής φαίνεται να συμφωνούν με την παραπάνω διατύπωση. Η τιμή της παραμέτρου για το λαβράκι εκτιμήθηκε αρκετά μικρότερη του κρανιού και η συμπεριφορά του είδους ταιριάζει με αυτή που περιγράφηκε, αφού το είδος εντοπίζεται συχνά σε μεταβατικά νερά, όπως λιμνοθάλασσες και δέλτα, τόσο κατά τα πρώτα στάδια της ζωής του όσο και μετά την ενηλικίωση (Millot et al., 2014). Από την άλλη, ο κρανιός αν και επίσης ευρύθερμο είδος, περνάει το μεγαλύτερο χρόνο της ζωής του σε σταθερότερα θερμοκρασιακά περιβάλλοντα (Cárdenas, 2011). Οι μεταναστεύσεις μεταξύ παράκτιας και πελαγικής ζώνης εντοπίζονται κυρίως την περίοδο της αναπαραγωγής, ενώ οι νεαροί κρανιοί περνούν τα πρώτα χρόνια της ζωής τους σε μεγαλύτερα βάθη (Haffray et al., 2012), κάτι που μπορεί να ερμηνεύσει τη μεγαλύτερη τιμή της παραμέτρου που εκτιμήθηκε για το είδος. Το παραπάνω επιχείρημα ενισχύεται και από τα αποτελέσματα απόκρισης σε οξεία θερμική καταπόνηση. Τόσο πειραματικά όσο και μέσω προσομοιώσεων, φάνηκε ότι το λαβράκι διαθέτει μεγαλύτερη ανοχή σε θερμικά επεισόδια μεγάλης έντασης.

Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση σχετικά με τα όρια ανοχής υπό οξεία θερμική πρόκληση είναι ότι για την μοντελοποίηση τους δεν απαιτήθηκε η εισαγωγή επιπλέον παραμέτρων, υπογραμμίζοντας έτσι τη γενικότητα του DEB πλαισίου. Η αποτύπωση των θερμικών ορίων έγινε με την υιοθέτηση επιπλέον παραδοχών βασισμένων σε παρατηρήσεις φυσιολογίας και αρχές θερμοδυναμικής και στη συνέχεια πραγματοποίηση προσομοιώσεων. Αποτέλεσμα αυτής της προσέγγισης ήταν να εκτιμηθούν θερμοκρασιακά κατώφλια (κρίσιμη θερμοκρασία,  $T_{crit}$ ) στο σημείο τομής των ροών κινητοποίησης και διατήρησης ενέργειας ( $\dot{p}_c = \dot{p}_s - \dot{p}_J$ ), επιτρέποντας έτσι την περιγραφή των θερμικών ορίων με καθαρά βιοενεργητικούς όρους. Υπογραμμίζεται ωστόσο, ότι κατά την ανάπτυξη αυτής της προσέγγισης δεν υποθέσαμε ταύτιση της  $T_{crit}$  με την CT<sub>max</sub>, το οποίο πηγάζει από την αβεβαιότητα γύρω από τους μηχανισμούς που περιγράφουν την CT<sub>max</sub>. Συγκεκριμένα, αν και έχουν γίνει συσχετίσεις της CT<sub>max</sub> και της θερμικής επίδρασης στη μεμβρανική λειτουργία των νευρώνων (Andreassen et al., 2020), οι μηχανισμοί που περιγράφουν την κατάρρευση της φυσιολογίας στο CT<sub>max</sub> παραμένουν γενικώς άγνωστοι (Claunch et al., 2021, Jutfelt et al., 2019). Επιπρόσθετα, το σημείο στο οποίο ορίζεται η CT<sub>max</sub> μπορεί να διαφέρει μεταξύ μελετών (απώλεια ισορροπίας, μυϊκοί σπασμοί, κώμα, θάνατος) (Beitinger & Lutterschmidt, 2011), ενώ μεθοδολογικά στοιχεία, όπως ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας, φαίνεται ότι επηρεάζουν τα αποτελέσματα δυσχεραίνοντας ακόμα περισσότερο τον εντοπισμό των υποκείμενων μηχανισμών (Brauner & Richards, 2020b). Στην παρούσα μελέτη, διατυπώθηκε η υπόθεση ότι ανεξαρτήτως του ποιος είναι ο πραγματικός φυσιολογικός μηχανισμός που περιγράφει το CT<sub>max</sub>, η απώλεια της ομοιόστασης οφείλεται στην αδυναμία κινητοποίησης επαρκούς ενέργειας για την κάλυψη των αυξανόμενων αναγκών διατήρησης (όπως απομάκρυνση κατεστραμμένων μορίων και ελευθέρων ριζών, επιδιόρθωση κυτταρικών δομών, κ.ά.). Το γεγονός ότι με αυτήν την παραδοχή μπόρεσαν να προσομοιωθούν θερμικά όρια παραπλήσια της CT<sub>max</sub> τόσο σε απόλυτες τιμές αλλά και σε τάσεις, αποτελεί ένα αξιοσημείωτο εύρημα της εν λόγω προσέγγισης και πιθανόν μια ρεαλιστική βιοενεργητική ερμηνεία του μηχανισμού της CT<sub>max</sub>.

# 4.3 Ερμηνεύοντας τα πρότυπα θερμικής απόκρισης

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στο μεταβολισμό δύο σημαντικών ειδών υδατοκαλλιέργειας τόσο πειραματικά όσο και με την ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων βασισμένων στη θεωρία DEB. Στόχος ήταν η μελέτη των θερμικών αποκρίσεων και των ορίων ανοχής με τον κατά το δυνατό πιο ολοκληρωμένο τρόπο έτσι ώστε να γεφυρωθούν κάποια από τα πειραματικά κενά που αναλύθηκαν στη βιβλιογραφική ανασκόπηση της ενότητας 2.1.1, αλλά και να αναπτυχθούν μοντέλα με προβλεπτική και ερμηνευτική ισχύ. Σε αυτό το πλαίσιο, προσδιορίστηκαν πειραματικά οι αποκρίσεις των ειδών κάτω από χρόνια και οξεία θερμική καταπόνηση, ενώ αναπτύχθηκαν και μαθηματικά εργαλεία. Τα τελευταία, συμπληρώνουν την ερμηνεία των παρατηρούμενων τάσεων και επιτρέπουν τη θεωρητική διερεύνηση των μηχανιστικών σχέσεων που περιγράφουν τις θερμικές προτιμήσεις και τα όρια ανοχής των ψαριών.

Όπως επιβεβαίωσαν και τα δύο πειράματα, οι βιολογικές επιδόσεις των ψαριών επιδεινώθηκαν ραγδαία κοντά στο άνω άκρο του εύρους ανοχής τους. Υποθέσεις σχετικά με το γιατί συμβαίνει αυτό επικεντρώνονται κυρίως στο οξυγόνο ως περιοριστικό παράγοντα σε συνδυασμό με αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις για βασικό μεταβολισμό (Jutfelt et al., 2018, Pörtner et al., 2017). Μάλιστα, οι περιορισμοί σε οξυγόνο σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με τους φυσιολογικούς περιορισμούς που καθορίζουν την ικανότητα παροχής οξυγόνου στους ιστούς και όχι σε αυτή καθ' αυτή διαθεσιμότητα οξυγόνου στο νερό (Ejbye-Ernst et al., 2016, Pörtner et al., 2017). Πράγματι, η μέτρηση του μεταβολικού ρυθμού στη παρούσα μελέτη έδειξε σημαντική αύξηση του βασικού μεταβολισμού (SMR) με τη θερμοκρασία, όπως άλλωστε έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη ψαριών (Christensen et al., 2020), κάτι το οποίο αποτυπώθηκε και στις προσομοιώσεις των μοντέλων με την ποσοτικοποίηση των επιδράσεων της θερμοκρασίας μέσω της σχέσης Arrhenius.

Ωστόσο, η μέγιστη αερόβια μεταβολική ικανότητα (MMR) σημείωσε πλατό πάνω από τους 28 °C στο λαβράκι, ενώ στον κρανιό καταγράφηκε και μείωση του σε ακόμα υψηλότερες θερμοκρασίες. Η μείωση του MMR είναι μια ένδειξη υπολειτουργίας των αναπνευστικών και καρδιαγγειακών μηγανισμών που χρησιμοποιούνται για να ρυθμίσουν την απορρόφηση οξυγόνου και συνεπώς υποδηλώνει έντονη καταπόνηση και εγγύτητα στα όρια φυσιολογικής κατάρρευσης (Johansen et al., 2021, Jutfelt, 2020). Παρόλο που η μείωση του MMR γενικά προβλέπεται από την θεωρία OCLTT, σπάνια καταγράφεται πειραματικά σε ψάρια, γεγονός που έχει αποτελέσει και σημείο κριτικής της (Gräns et al., 2014, Norin et al., 2014). Ο λόγος είναι ότι τα περισσότερα είδη έχουν πολύ στενά θερμοκρασιακά όρια επιβίωσης πέραν του σημείου που ξεκινά η μείωση του MMR και ως εκ τούτου είναι δύσκολο να ληφθούν τέτοιες τιμές (Johansen et al., 2021, Pörtner et al., 2017). Στα πειράματα που διεξήγθησαν σε αυτήν τη μελέτη, ο συνδυασμός SMR και MMR είχε ως αποτέλεσμα το αερόβιο δυναμικό να ελαχιστοποιηθεί στην υψηλότερη θερμοκρασιακή συνθήκη, όπως προβλέπεται από τη θεωρία OCLTT για θερμοκρασίες κοντά στο ανώτερο άκρο του εύρους ανοχής (Jutfelt, 2020). Ωστόσο, είναι ενδιαφέρον ότι παρά τις θνησιμότητες που σημειώθηκαν σε αυτή τη θερμοκρασία, το αερόβιο δυναμικό απείχε αρκετά από τον μηδενισμό του, ενώ μάλιστα για το λαβράκι ο MMR δεν παρουσίασε σημεία καμπής. Αυτό ενδεχομένως υποδηλώνει ότι το όριο θερμικής ανοχής στο λαβράκι δεν ερμηνεύεται αποκλειστικά από περιορισμούς σε οξυγόνο, αλλά επηρεάζεται και από άλλους μηγανισμούς όπως αποσταθεροποίηση κυτταρικών μεμβρανών ή μετουσίωση δομικών πρωτεϊνών οι οποίοι χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, όπως προτείνεται αλλού (Verberk et al., 2016). Σε κάθε περίπτωση, η μελέτη της αερόβιας ικανότητας αποτελεί μια κατ' ανάγκη προσέγγιση της μεταβολικήςενεργειακής ικανότητας, καθώς η τελευταία είναι δύσκολο να προσδιοριστεί πειραματικά (Chabot et al., 2016). Κατά την ανάπτυξη των μοντέλων, χρησιμοποιήθηκε η εκτεταμένη μορφή της εξίσωσης Arrhenius για να περιγράψει τη μείωση της δραστικότητας των ενζύμων, και άρα της μεταβολικής ικανότητας, στα όρια του εύρους ανοχής. Μάλιστα, αυτή η προσέγγιση λειτούργησε αποτελεσματικά, οδηγώντας τόσο σε καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στις
προβλέψεις των μοντέλων όσο και στην εξαγωγή συμπερασμάτων συναρτήσει των παραμέτρων τους.

Σε μοριακό και βιοχημικό επίπεδο, οι αποκρίσεις των ψαριών στην θερμική καταπόνηση περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση μηχανισμών που σχετίζονται με την απομάκρυνση και επιδιόρθωση βλαβών, την προστασία κυτταρικών δομών και την διαχείριση ενεργειακών πηγών (Kassahn et al., 2009, Sokolova et al., 2012). Πράγματι, τα παραπάνω πρότυπα θερμικής απόκρισης καταγράφηκαν πειραματικά για τα δύο είδη στην ενδιάμεση πειραματική θερμοκρασία, ενώ στην υψηλότερη, κάποιοι από τους βιοδείκτες παρουσίασαν μείωση. Τέτοιοι ήταν, για παράδειγμα, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα και οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος, που σε αντίθεση με το εδραιωμένο πρότυπο υπερέκφρασης υπό θερμική καταπόνηση (Jia et al., 2020, Rossi et al., 2017, Yang et al., 2021) παρουσίασαν μείωση, εκφράζοντας έτσι την αδυναμία των ψαριών για περαιτέρω φυσιολογική ρύθμιση. Σημειώνεται ότι αντίστοιχες παρατηρήσεις έχουν καταγραφεί κάτω από ακραίες θερμοκρασίες για την τιλάπια (Waheed et al., 2020), το Ιαπωνικό πλατύψαρο (Paralicchthys olivaceus) (Kim et al., 2019), και την ιριδίζουσα πέστροφα (Oncorhynchcus mykiss) (Topal et al., 2021) κάτι το οποίο τυπικά αποδίδεται στην μετουσίωση των πρωτεϊνών και κατ' επέκταση στην απενεργοποίηση των εμπλεκόμενων ενζύμων σε υψηλές θερμοκρασίες (Kregel, 2002, Liu et al., 2020). Απεναντίας, το γαλακτικό οξύ παρουσίασε αύξηση, υποδηλώνοντας αναντιστοιχία αερόβιας ικανότητας και ενεργειακών απαιτήσεων. Αυτή η αναντιστοιχία επάγει την ενεργοποίηση αναερόβιων μεταβολικών οδών και τυπικά συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος (όπως και καταγράφηκε) (Forgati et al., 2017, Young et al., 2019), αυξημένη δράση γλυκολυτικών ενζύμων (PK, L-LDH) (Regan et al., 2015, Zhang et al., 2017), και έκφραση υποξικών παραγόντων όπως ο Hisf-1a (Feidantsis et al., 2020, 2013). Ομοίως, η συγκέντρωση κορτιζόλης έδειξε αξιοσημείωτη αύξηση στις υψηλές θερμοκρασίες. Τέτοια αύξηση της κορτιζόλης στο πλάσμα έχει καταγραφεί σε πολλά ψάρια κάτω από θερμική καταπόνηση (de Freitas Souza et al., 2020, Wang et al., 2019, Yuan et al., 2020), ενώ πρόσφατα έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι συνδέεται με την απελευθέρωση ΑΤΡ και νουκλεοτιδίων στον εξωκυττάριο χώρο, συμβάλλοντας έτσι σε φλεγμονές και ιστολογικές βλάβες που τυπικά εμφανίζονται κάτω από συνθήκες έντονης καταπόνησης (Baldissera et al., 2020, de Freitas Souza et al., 2020). Μάλιστα, η παραπάνω υπόθεση ενδεχομένως ερμηνεύει και την ανάπτυξη θρόμβων που καταγράφηκε στον κρανιό.

Η ενεργοποίηση των ανωτέρω προστατευτικών μηγανισμών υπό συνθήκες θερμικής καταπόνησης επιφέρει πρόσθετο μεταβολικό κόστος για έναν οργανισμό (Jager, 2014). Κατά συνέπεια, κινητοποιούνται και καταναλώνονται επιπλέον αποθέματα ενέργειας, επιφέροντας έτσι αλλαγές στους σωματομετρικούς δείκτες και τη σωματική σύσταση, κάτι το οποίο αποτυπώθηκε σαφώς τόσο πειραματικά όσο και από τις προσομοιώσεις σωματικής σύστασης. Συγκεκριμένα, κάτω από μεγάλης έντασης χρόνια θερμική καταπόνηση καταγράφηκε μείωση του HSI, καθώς και της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και λίπη με ταυτόγρονη αύξηση της περιεκτικότητας σε υγρασία. Αντίστοιχες τάσεις έχουν παρατηρηθεί τόσο σε συνθήκες θερμικής καταπόνησης (Cai et al., 2020, Islam et al., 2020c) όσο και σε πειράματα ασιτίας (Chatzifotis et al., 2018), υποδηλώνοντας έτσι ότι οι μεταβολές στη σωματική σύσταση καθορίζονται από το ισοζύγιο ενέργειας του οργανισμού. Σε πλήρη συμφωνία με τον παραπάνω μηχανισμό, η μαθηματική μοντελοποίηση της σωματικής σύστασης επιδίωξε να περιγράψει μεταβολές στη σωματική σύσταση συναρτήσει της πυκνότητας των ενεργειακών αποθεμάτων των ψαριών, κάτι που επιτεύχθηκε με αξιόλογη ακρίβεια και για τα δύο είδη. Πράγματι, προσομοιώσεις υπό διαφορετική διαθεσιμότητα τροφής επιβεβαίωσαν ότι αλλαγές στη σωματική σύσταση των ψαριών μπορούν να ερμηνευτούν βάσει μεταβολών στο ενεργειακό τους ισοζύγιο, υποδεικνύοντας ότι οι παρατηρούμενες τάσεις σε υψηλές θερμοκρασίες αποτελούν προϊόν χαμηλής ενεργειακής αφομοίωσης και υψηλού μεταβολικού κόστους (Jutfelt, 2020, Petitjean et al., 2019). Μάλιστα το μοντέλο περιγράφει δυναμικά τις παραπάνω μεταβολές, παρέχοντας έτσι και ένα εργαλείο μελέτης της χρονικής κλίμακας στην οποία συμβαίνουν αλλαγές της σωματικής σύστασης κάτω από διαφορετικές συνθήκες.

Όσον αφορά τα όρια ανοχής των ψαριών κάτω υπό οξεία θερμική καταπόνηση, φαίνεται ότι το θερμοκρασιακό ιστορικό τους παίζει καθοριστικό ρόλο, κάτι που τεκμηριώθηκε πειραματικά από τη μετατόπιση της CT<sub>max</sub> σε διαφορετικές θερμοκρασίες εγκλιματισμού, σε συμφωνία με άλλες μελέτες ψαριών (Penny & Pavey, 2021, Sakurai et al., 2021, Yilmaz et al., 2020, Zhou et al., 2019). Είναι ωστόσο σημαντικό να ερμηνεύσουμε κριτικά τέτοιου είδους μεταβολές. Η χρήση δεικτών όπως ο CT<sub>max</sub> αποτελεί εδραιωμένη πρακτική στη μελέτη των θερμικών ορίων (Azra et al., 2020, Moyano et al., 2017, Yanar et al., 2019), επειδή χαρακτηρίζονται από μεγάλη επαναληψιμότητα και έτσι επιτρέπουν συγκρίσεις μεταξύ ειδών. Εντούτοις, κατά την έκθεση σε οξεία θερμική καταπόνηση η επιβίωση ενός οργανισμού είναι χρονικά εξαρτώμενη, δηλαδή καθορίζεται από την ένταση της καταπόνησης (την τιμή θερμοκρασίας), και από τη χρονική έκθεση σε αυτή (Kingsolver & Umbanhowar, 2018). Γι' αυτό το λόγο, η θεώρηση τέτοιων δεικτών ως απόλυτα όρια θερμικής ανογής αποτελεί μια εσφαλμένη αντίληψη που δυστυχώς έχει ευρεία απήχηση σε μελέτες θερμικής βιολογίας (Pörtner et al., 2017, Rezende et al., 2014, Santos et al., 2011). Μια εναλλακτική οπτική είναι να θεωρήσουμε αυτά τα όρια ως πιθανά σημεία του 'τοπίου' ('thermal landscape') θερμικής ανοχής (Garcia & Clusella-Trullas, 2019, Nowakowski et al., 2018), δηλαδή ενός χώρου πολλών διαστάσεων στον οποίον τα θερμικά όρια εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ άλλων την ένταση της θερμικής καταπόνησης, το χρόνο έκθεσης, το θερμικό ιστορικό των οργανισμών (θερμοκρασία εγκλιματισμού), το μέγεθος των ζώων, και την κατάσταση της υγείας τους (Rezende et al., 2014). Πράγματι, οι Turko et al. (2020) μελέτησαν τις παραμέτρους που επηρεάζουν το CT<sub>max</sub> στον κοκκινόπλευρο κέφαλο (Clinostomue elongates) και παρατήρησαν ότι η θερμική ανοχή επηρεάζεται τόσο από την εποχή του χρόνου (θερμοκρασία εγκλιματισμού), όσο και από το μέγεθος και την σωματική κατάσταση των ψαριών. Συγκεκριμένα, στα πειράματά τους η κρίσιμη θερμοκρασία συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία εγκλιματισμού και αρνητικά με το μέγεθος των ψαριών. Επίσης, ψάρια στα οποία δόθηκε μειωμένο σιτηρέσιο χαρακτηρίστηκαν από μικρό δείκτη ευρωστίας και κατ' επέκταση μειωμένα ενεργειακά αποθέματα. Αυτά τα ψάρια σημείωσαν και σημαντικά μικρότερες CT<sub>max</sub> συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Οι παραπάνω τάσεις αποτυπώθηκαν και στις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν εδώ. Συγκεκριμένα, η κρίσιμη θερμοκρασία συσχετίστηκε αρνητικά με το βάρος των ψαριών, ενώ η λειτουργική απόκριση, που αποτελεί μέτρο των τροφικών συνθηκών και άρα της κατάστασης των ενεργειακών αποθεμάτων ενός ζώου, συσχετίστηκε θετικά. Ο βιοενεργητικός λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτό είναι ότι η ροή κινητοποιημένου αποθέματος είναι ευθέως ανάλογη της πυκνότητας των αποθεμάτων και άρα ψάρια που ζουν σε φτωχές τροφικές συνθήκες θα έχουν όχι μόνο λιγότερα αποθέματα αλλά και μειωμένη ικανότητα κινητοποίησής τους. Αξίζει μάλιστα να σημειωθεί ότι μειωμένη ικανότητα θερμικής ανοχής υπό χαμηλές τροφικές συνθήκες έχει παρατηρηθεί και σε άλλους εξώθερμους οργανισμούς όπως σκαθάρια (Chidawanyika et al., 2017) και μυρμήγκια (Bujan & Kaspari, 2017). Οι ερμηνείες των παραπάνω συγγραφέων επικεντρώνονται κυρίως στο συνδυασμό λιγοστής τροφής και υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων. Υποθέτουν δηλαδή ότι ο συνδυασμός τους οδηγεί σε ταχεία εξάντληση των ενεργειακών αποθεμάτων, το οποίο προκαλεί στη συνέχεια αδυναμία των οργανισμών να ρυθμίσουν τους προστατευτικούς τους μηχανισμούς. Οι παραπάνω παρατηρήσεις όσον αφορά τις συσχετίσεις θερμικών ορίων, μεγέθους, και τροφής, ταυτίζονται με τις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν εδώ, δείχνοντας όχι μόνο ότι το μοντέλο αποτυπώνει τις βασικές τάσεις που καταγράφονται πειραματικά, αλλά και ότι ο μηχανισμός του ερμηνεύεται με βιοενεργητικούς όρους. Μάλιστα, το μοντέλο υποδεικνύει ότι η ελάττωση της θερμικής αντοχής σε χαμηλές τροφικές συνθήκες δεν εξαρτάται από τη μείωση των αποθεμάτων αυτών καθ' αυτών, αλλά από την ικανότητα κινητοποίησής τους, η οποία εξαρτάται δευτερογενώς από την πυκνότητά τους. Αυτό με τη σειρά του αποτελεί μια πρόταση που χρήζει πειραματικής διερεύνησης, ενώ αποτελεί και παράδειγμα του πως η θεωρία μπορεί να επάγει την πειραματική έρευνα (Kooijman, 2017).

## 4.4 Συσχέτιση ευρημάτων διατριβής με την κλιματική αλλαγή

Οι ενεργειακές στρατηγικές και τα ειδο-ειδικά χαρακτηριστικά των οργανισμών καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τα όρια θερμικής ανοχής τους και κατ' επέκταση τη γεωγραφική κατανομή των ειδών. Δεδομένης της σχέσης που συνδέει τη θερμοκρασία με τον μεταβολισμό των ψαριών, οι πιέσεις που προκύπτουν από την παγκόσμια άνοδο της θερμοκρασίας αναμένεται να έχουν τεράστιες επιπτώσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς (Barange et al., 2018, Marbà et al., 2015, Smale et al., 2019). Στους άγριους πληθυσμούς, αυτό αναμένεται να μεταφραστεί σε μεταναστεύσεις προς ενδιαιτήματα με ευνοϊκότερες θερμοκρασιακές συνθήκες, αλλαγές στα γεωγραφικά πρότυπα εξάπλωσης και μεταβολές στη σύνθεση των βιοκοινοτήτων (Weiskopf et al., 2020). Από την άλλη, στην περίπτωση της υδατοκαλλιέργειας, οι επιπτώσεις θα είναι πολύ πιο άμεσες σε ατομικό επίπεδο, διότι οι εκτρεφόμενοι οργανισμοί δεν έχουν τη δυνατότητα διαφυγής των δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών, αλλά περιορίζονται χωρικά από το περιβάλλον εκτροφής τους. Μάλιστα, η ιγθυοκαλλιέργεια στη Μεσόγειο δραστηριοποιείται κυρίως στην παράκτια ζώνη (FAO, 2020, ΣΕΘ, 2020) η οποία εκτίθεται σε μεγαλύτερες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις και άρα οι επιπτώσεις στο μεταβολισμό και τη φυσιολογία των εκτρεφόμενων ψαριών αναμένεται να είναι ιδιαίτερα έντονες (Azzurro et al., 2019). Προκύπτει λοιπόν, ότι ο προσδιορισμός των ορίων ανοχής και των θερμικών αποκρίσεων των εκτρεφόμενων ειδών είναι καθοριστικής σημασίας για τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών, καθώς επιτρέπει την πρόβλεψη μελλοντικών επιπτώσεων και την έγκυρη λήψη στρατηγικών αποφάσεων για την προσαρμογή στην κλιματική αλλαγή (Pham et al., 2021).

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής υποδεικνύουν ότι τα δύο είδη που μελετήθηκαν παρουσιάζουν παρόμοια πρότυπα θερμικής απόκρισης και παραπλήσια ανώτατα όρια ανοχής στη χρόνια θερμική καταπόνηση, με σημαντικές ωστόσο διαφορές να καταγράφονται στις επιμέρους φυσιολογικές τους αποκρίσεις, αλλά και στην ικανότητα αντιμετώπισης θερμικών επεισοδίων μεγάλης έντασης. Συγκεκριμένα, η βέλτιστη θερμοκρασία για την αύξηση του λαβρακιού και του κρανιού τοποθετείται μεταξύ των 24 και 29 °C, με αυτή του κρανιού να βρίσκεται εγγύτερα του κατώτερου άκρου του εύρους. Λαμβάνοντας υπόψη ότι σε πολλές περιοχές της Μεσογείου η θερμοκρασία το καλοκαίρι ξεπερνάει ήδη τους 28 °C (Sakalli, 2017, Shaltout & Omstedt, 2014), αυτό σημαίνει ότι περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας θα οδηγήσει σε συνθήκες που σταδιακά απομακρύνονται από τη βέλτιστη για την εκτροφή τους. Σύμφωνα με τις πιο δυσοίωνες κλιματικές προβλέψεις, οι θερμοκρασίες στη Μεσόγειο ενδέχεται να ξεπεράσουν τους 31 °C τους καλοκαιρινούς μήνες με θερμοκρασιακά μέγιστα σύντομης διάρκειας έως και 33 °C κατά τη διάρκεια καύσωνα (Garcias-Bonet et al., 2016, Sakalli, 2017). Και τα δύο είδη που μελετήθηκαν εδώ εμφάνισαν αξιοσημείωτη ανοχή με τα ανώτερα όρια τους σε χρόνια θερμική καταπόνηση να εντοπίζονται στους  $33 \pm 1$  °C, ενώ αρκετά υψηλότερη (36 - 40 °C) εμφανίστηκε η ανοχή τους σε οξεία θερμική καταπόνηση. Επομένως, φαίνεται ότι δεν διακυβεύεται άμεσα η επιβίωση αυτών των ψαριών αφού, όπως έδειξε και η μελέτη των φυσιολογικών τους αποκρίσεων, θα είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν επαρκώς προστατευτικούς μηχανισμούς ώστε να επιβιώσουν της θερμικής καταπόνησης για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα. Αυτό που διακυβεύεται, ωστόσο, είναι η οικονομική βιωσιμότητα της εκτροφής τους. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ραγδαία επιδείνωση της βιολογικής επίδοσης για θερμοκρασίες μεταξύ 29 - 34 °C, με τους διάφορους ζωοτεχνικούς και φυσιολογικούς δείκτες να αποτυπώνουν έντονα σημάδια θερμικής καταπόνησης και σημαντικά μειωμένα περιθώρια για εμπορική εκμετάλλευση. Ως εκ τούτου, χρόνια έκθεση σε τέτοιες θερμοκρασίες θα έχει σημαντικές οικονομικές συνέπειες για την υδατοκαλλιέργεια, αφού συνεπάγεται μειωμένη συνολική παραγωγή με ταυτόχρονη αύξηση των λειτουργικών εξόδων (χαμηλή μετατρεψιμότητα), ενώ η κακή κατάσταση της υγείας των ψαριών ενδέχεται να οδηγήσει και σε άλλα προβλήματα που σχετίζονται με την έξαρση ασθενειών (Cascarano et al., 2021).

Υπογραμμίζεται ωστόσο, ότι η εκτίμηση μελλοντικών επιδράσεων στις αυξητικές επιδόσεις με βάση μόνο τα όρια ανοχής αποτελεί μια υπεραπλούστευση, καθώς οι θερμοκρασίες εμφανίζουν έντονα εποχικά πρότυπα. Σε αυτό το σημείο, είναι καθοριστική η συνεισφορά μοντέλων τα οποία ενσωματώνουν δυναμικές αλλαγές της θερμοκρασίας και μπορούν να προβλέψουν αλλαγές στην αύξηση των ψαριών καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου (Stavrakidis-Zachou et al., 2021c, 2018). Όπως αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 3, τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν εδώ μπορούν να αποτυπώσουν τα εποχιακά αυξητικά πρότυπα με αξιόλογη ακρίβεια και επομένως μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία για τη μελέτη των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής στο μέλλον. Ενδεικτικά, όπως έχουν δείξει και προσομοιώσεις DEB μοντέλων, η αύξηση της μέσης ετήσιας θερμοκρασίας ενδέχεται να δράσει ακόμα και θετικά στις επιδόσεις των ψαριών υπό κάποια κλιματικά σενάρια (Stavrakidis-Zachou et al., 2021a). Αυτό οφείλεται στο ότι ακόμα και αν η αύξηση του βάρους κατά τους θερινούς μήνες επιβραδυνθεί, οι συνολικές επιδόσεις μπορεί να επωφεληθούν από την αύξηση της μέσης θερμοκρασίας και κατ' επέκταση του υψηλού αυξητικού ρυθμού το χειμώνα. Με τη σειρά του, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε προτάσεις σχετικά με τις διαχειριστικές πρακτικές που ίσως ευνοηθούν στο μέλλον, όπως η αλλαγή του χρόνου έναρξης της παραγωγής, η επιλογή διαφορετικών εμπορικών μεγεθών ή και η αλλαγή της περιοχής εκτροφής, επισημαίνοντας έτσι την ισχύ αυτών των μοντέλων ως εργαλείων τόσο μελέτης όσο και διαχείρισης (Stavrakidis-Zachou et al., 2021c, Varga et al., 2020). Επίσης, όπως υπέδειξε η πειραματική και η θεωρητική μελέτη της οξείας θερμικής καταπόνησης, τα όρια ανοχής συσχετίζονται αρνητικά με το μέγεθος των ψαριών. Από αυτή την παρατήρηση θα μπορούσαν να προκύψουν, μεταξύ άλλων, διαχειριστικές προτάσεις που ελαχιστοποιούν τις επιπτώσεις επεισοδίων καύσωνα με το να συγχρονίζουν τους καλοκαιρινούς μήνες εκτροφής με ψάρια μικρότερων μεγεθών.

Τέλος, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι η άνοδος της θερμοκρασίας μπορεί να είναι η πιο σημαντική όψη της κλιματικής αλλαγής, αφού είναι γνωστό ότι προκαλεί πλήθος επιπτώσεων στη φυσιολογία, το μεταβολισμό, και τη συμπεριφορά των ψαριών (Crozier & Hutchings, 2014), αλλά δεν είναι η μόνη. Ένα σύνολο άλλων παραγόντων αποτελούν εκφάνσεις της, όπως η οξίνιση των θαλασσών, οι αλλαγές στην κυκλοφορία θαλάσσιων ρευμάτων, η ελάττωση του διαλυμένου οζυγόνου στο νερό, οι συχνότερες πληθυσμιακές εξάρσεις τοξικών φυκών και η αύξηση της έντασης και συχνότητας ακραίων καιρικών φαινομένων, όπως καύσωνες και κακοκαιρίες (Collins et al., 2020). Αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν την ιχθυοκαλλιέργεια με διάφορους τρόπους είτε επιδρώντας άμεσα στα ψάρια είτε στον τρόπο εκτροφής και διαχείρισής τους (Rosa et al., 2012). Μάλιστα, επειδή η επιστημονική γνώση σχετικά με την αλληλεπίδρασή τους με τους εκτρεφόμενους οργανισμούς, αλλά και μεταξύ τους, εμφανίζει σημαντικά κενά, είναι κρίσιμο να μελετηθεί η συνεργιστική τους δράση στα εκτρεφόμενα είδη (Reid et al., 2019). Για παράδειγμα, όπως αναφέρει το θεωρητικό πλαίσιο της OCLTT και όπως είδαμε και πειραματικά με τη μείωση του αερόβιου εύρους σε υψηλές θερμοκρασίες, το οξυγόνο είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για την περιγραφή των θερμικών ορίων των ψαριών. Ενδεικτικά, φαίνεται ότι τα θερμικά όρια μετατοπίζονται προς τα κάτω σε συνθήκες υποξίας (Pörtner et al., 2017). Κατά συνέπεια, θερμοκρασιακές προβλέψεις που προς το παρόν φαντάζουν ασφαλείς, όπως αυτές που περιγράφηκαν σε προηγούμενη παράγραφο, μπορούν εύκολα να μετατραπούν σε επικίνδυνες για την επιβίωση των ψαριών αν συνδυαστούν με χαμηλά επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου ή χαμηλή κυκλοφορία θαλάσσιων ρευμάτων. Αυτό με τη σειρά του αναδεικνύει τη μελέτη της συνεργιστικής επίδρασης θερμοκρασίας - οξυγόνου στον μεταβολισμό ως αναγκαιότητα για μελλοντικές πειραματικές και θεωρητικές διερευνήσεις. Αντίστοιχες διερευνήσεις συνδυασμού παραγόντων όπως θερμοκρασίας - pH, και θερμοκρασίας - αλατότητας παρουσιάζουν επίσης μεγάλο ενδιαφέρον και χρήζουν περαιτέρω μελέτης στο μέλλον.

## 5 Συμπεράσματα

Υπό το πρίσμα της κλιματικής αλλαγής καθίσταται σαφής η ανάγκη μελέτης αλλά και πρόβλεψης των θερμικών αποκρίσεων ψαριών με σημαντικό εμπορικό ενδιαφέρον, όπως τα είδη υδατοκαλλιέργειας. Μάλιστα, για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των μελλοντικών προκλήσεων η μελέτη αυτή οφείλει να περιλαμβάνει τόσο την κατανόηση των βιολογικών αποκρίσεων όσο και την ανάπτυξη εργαλείων ερμηνείας και πρόβλεψης, τα οποία και πρέπει να ενσωματώνουν εδραιωμένους φυσιολογικούς μηχανισμούς. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα και τη συζήτηση που παρατέθηκαν στις προηγούμενες ενότητες, καθίσταται σαφές ότι η μελέτη του μεταβολισμού και των θερμικών αποκρίσεων των ψαριών μέσω ενός συνδυασμού πειραματικών και μαθηματικών μεθόδων αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση με ενδιαφέρουσες προεκτάσεις. Υπάρχει μια αμφίδρομη σχέση μεταξύ του πραγματικού κόσμου και της απλοποιημένης αναπαράστασής του (μοντέλα) η οποία κατέχει κεντρική θέση στην επιστημονική σκέψη και βελτιώνει την κατανόησή μας για πολύπλοκα φαινόμενα και συστήματα όπως οι οργανισμοί και οι αλληλεπιδράσεις τους με το περιβάλλον. Ξεκινώντας από παρατηρήσεις, μπορούμε να δομήσουμε, στηριγμένοι σε γνωστούς μηγανισμούς, μαθηματικά μοντέλα για να τις περιγράψουμε και στη συνέχεια να τα χρησιμοποιήσουμε για να ελέγξουμε υποθέσεις και να εξελίξουμε περαιτέρω τους μηχανισμούς που χρησιμοποιούμε. Η διαδικασία αυτή αναπόφευκτα γεννά καινούργια ερωτήματα που οδηγούν ξανά στην ανάγκη νέων παρατηρήσεων/ μετρήσεων, συλλογή δεδομένων, και διεξαγωγή πειραμάτων και ο κύκλος επαναλαμβάνεται εμπλουτίζοντας κάθε φορά την κατανόησή μας για τα φαινόμενα που μελετώνται.

Δεδομένου ότι τα περισσότερα μοντέλα που χρησιμοποιούνται για τον μεταβολισμό στα ψάρια βασίζονται σε εμπειρικές/στατιστικές σχέσεις, η μέχρι τώρα χρήση τους ως εργαλεία μελέτης και κατανόησης των μηχανισμών της θερμικής απόκρισης είναι εξαιρετικά περιορισμένη. Στην παρούσα διατριβή επιχειρήθηκε η σύνδεση των εμπειρικών γνώσεων με τους βιολογικούς μηχανισμούς μέσω του βιοενεργητικού πλαισίου της DEB θεωρίας. Ξεκινώντας από την εμπειρική γνώση, εντοπίστηκαν γνωστικά κενά γύρω από τις θερμικές αποκρίσεις του λαβρακιού και του κρανιού και πραγματοποιήθηκαν πειράματα για να καλυφθούν κάποια από αυτά. Όπως συζητήθηκε στις προηγούμενες παραγράφους διερευνήθηκαν οι αποκρίσεις και η θερμική ανοχή τους σε μεγέθη ψαριών, χρονικές κλίμακες, και θερμοκρασίες στις οποίες δεν είχαν μελετηθεί προηγουμένως χρησιμοποιώντας ένα σύνολο βιοδεικτών σε διάφορα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης. Στη συνέχεια, τα δεδομένα που συλλέχθηκαν τροφοδότησαν την μαθηματικά οργανωμένη γνώση, με την ανάπτυξη DEB μοντέλων τα οποία και χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση των θερμικών αποκρίσεων, τη βιοενεργητική σύγκριση των ειδών, και την ερμηνεία των παρατηρούμενων τάσεων. Μάλιστα, η καλή προσαρμογή πραγματικών παρατηρήσεων στις προβλέψεις των μοντέλων έδρασε ενισχυτικά για τις βιοενεργητικές ερμηνείες που δόθηκαν ενώ κατά τη διαδικασία αυτή προέκυψαν και ανάγκες για επιπλέον δεδομένα τα οποία ίσως αποτελέσουν έναυσμα για μελλοντικές πειραματικές διερευνήσεις.

Τα πειράματα που διεξήγθησαν και τα αποτελέσματα τους υποδεικνύουν παρόμοια πρότυπα απόκρισης για τα δύο είδη και παραπλήσια ανώτατα όρια ανοχής στη χρόνια θερμική καταπόνηση. Ωστόσο, εμφανίζονται σημαντικές ποσοτικές διαφορές όσον αφορά τους διάφορους βιοδείκτες που μελετήθηκαν οι οποίες ερμηνεύονται βάσει διαφορών στα χαρακτηριστικά των δύο ειδών. Συνολικά, το σύνολο των αιματολογικών, βιοχημικών, ορμονικών, αντιοξειδωτικών και μοριακών δεικτών που μελετήθηκαν υποδεικνύουν σημάδια θερμικής καταπόνησης σε ενδιάμεσες θερμοκρασίες (28-29 °C) για τα δύο είδη. Αυτό φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά τις συνολικές επιδόσεις του κρανιού όσον αφορά την αύξηση του βάρους και τη μετατρεψιμότητα της τροφής αλλά έχει μικρότερες συνέπειες στις επιδόσεις του λαβρακιού, επισημαίνοντας διαφορές στο βέλτιστο θερμοκρασιακό εύρος των δύο ειδών το οποίο εμφανίζεται μετατοπισμένο προς τα πάνω για το λαβράκι. Χρόνια έκθεση σε θερμοκρασίες πέραν των παραπάνω δεν είναι βιώσιμη για την εκτροφή τους καθώς έχει δραματικές συνέπειες στις επιδόσεις και την υγεία των ψαριών με ραγδαία επιδείνωση των φυσιολογικών τους δεικτών. Αυτό είναι ιδιαίτερα ανησυχητικό για την οικονομική αποδοτικότητας της εκτροφής αυτών των ειδών δεδομένου ότι τέτοιες θερμοκρασίες καταγράφονται ήδη στη Μεσόγειο και αναμένεται να αυξηθούν περεταίρω τα επόμενα χρόνια. Μάλιστα, σε συνδυασμό με τις αλλαγές στους δείκτες φυσιολογίας καταγράφηκε και σημαντική επιδείνωση των σωματομετρικών δεικτών και της σωματικής σύστασης των δύο ειδών, γεγονός που εντείνει τις προκλήσεις εμπορικής τους εκμετάλλευσης στο μέλλον. Επιπλέον, τα ανώτερα όρια επιβίωσης εμφανίζονται συντηρημένα για τα δύο είδη σε ένα εξαιρετικά στενό θερμοκρασιακό εύρος πλησίον των 33 °C. Παρότι οι ακριβείς μοριακοί και κυτταρικοί μηχανισμοί στους οποίους αυτό οφείλεται χρήζουν περεταίρω διερεύνησης, η ερμηνεία της κακής φυσιολογικής κατάστασης και χαμηλής επιβίωσης εντοπίζεται σε μεγάλο βαθμό στην ανεπαρκή ικανότητα για αερόβιο μεταβολισμό όπως αποτυπώνεται από τη μελέτη του μεταβολικού ρυθμού,

την ανάπτυξη μεγαλοκαρδίας, και την αύξηση δεικτών αναερόβιου μεταβολισμού. Επιπλέον, στην περίπτωση του κρανιού εμφανίζεται και σαφής αιτιολογία θανάτου που σχετίζεται με το σχηματισμό θρόμβων στο αίμα. Τέλος, τα δύο είδη εμφανίζουν αξιοσημείωτη ικανότητα απόκρισης σε οξεία θερμική καταπόνηση. Μάλιστα, αυτή είναι σημαντικά μεγαλύτερη στο λαβράκι, υποδεικνύοντας συγκριτικά μεγαλύτερη ανθεκτικότητα του είδους σε επεισόδια ακραίων καιρικών φαινομένων (καύσωνες) τα οποία αναμένεται να αποτελέσουν αυξανόμενη πρόκληση για την υδατοκαλλιέργεια στο μέλλον. Ωστόσο, όπως επιβεβαιώνει η μελέτη του μεταβολικού ρυθμού και των βιοχημικών, μεταβολικών, και μοριακών δεικτών, η αερόβια ικανότητα τοποθετείται στο επίκεντρο των μηχανισμών που ερμηνεύουν τα θερμικά όρια των ψαριών. Αυτό με τη σειρά του όχι μόνο υποδεικνύει ότι ενδεχομένως τα όρια θερμικής ανοχής είναι σημαντικά μικρότερα υπό συνθήκες πραγματικής εκτροφής στη θάλασσα, αλλά αναδεικνύει και τη μελέτη της συνεργιστικής επίδράσης θερμικές αποκρίσεις των ψαριών ως αναγκαιότητα για μελλοντικές διερευνήσεις.

Η ανάπτυξη DEB μοντέλων για το λαβράκι και τον κρανιό έδειξε ότι οι θερμικές τους αποκρίσεις μπορούν να περιγραφούν ικανοποιητικά από ένα πλαίσιο μαθηματικής μοντελοποίησης που ερμηνεύει τον μεταβολισμό ως ισοζύγια ενέργειας και μάζας. Η σύγκριση των βιοενεργητικών ισοζυγίων των δύο ειδών έδειξε διαφορές στις ενεργειακές στρατηγικές τους με το λαβράκι να κατανέμει μεγαλύτερο μέρος του ισοζυγίου του σε διαδικασίες γενετικής ωρίμανσης και αναπαραγωγής καθώς και σε διεργασίες διατήρησης, κάτι που ερμηνεύει τους μεγαλύτερους αυξητικούς ρυθμούς που παρατηρούνται στον κρανιό. Επιπλέον, ανάλυση των παραμέτρων των μοντέλων έδειξε ότι βασικές παράμετροι που αντικατοπτρίζουν την ικανότητα αφομοίωσης ενέργειας από το περιβάλλον και το κόστος σωματικής διατήρησης συσχετίζονται αρνητικά με την βέλτιστη θερμοκρασία των εκάστοτε ειδών και έτσι μπορούν να αποτελέσουν μέτρο σύγκρισης μεταξύ τους. Επιπρόσθετα, χαμηλές τιμές της θερμοκρασίας Arrhenius στο λαβράκι, μιας παραμέτρου που αποτελεί μέτρο της θερμικής ευαισθησίας, συσχετίστηκαν θετικά με τα όρια θερμικής ανοχής, παρατήρηση που αποδόθηκε στις υψηλές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις στις οποίες εκτίθεται το είδος κατά τα πρώτα στάδια της ζωής του. Προσομοιώσεις οξείας θερμικής καταπόνησης βασισμένες στη θερμοδυναμική παραδοχή ότι η κατάρρευση της φυσιολογίας λαμβάνει χώρα στο σημείο εξίσωσης της διαθέσιμης ενέργειας με τις ενεργειακές δαπάνες για διατήρηση του μεταβολισμού, κατάφεραν να αποτυπώσουν ρεαλιστικά τα ανώτερα θερμικά όρια των δύο ειδών. Μάλιστα, η ικανοποιητική αποτύπωση των προτύπων που επηρεάζουν αυτά τα όρια όπως το μέγεθος των ζώων, το θερμικό ιστορικό τους, και η κατάσταση των ενεργειακών τους αποθεμάτων ενισχύει την υιοθέτηση της μεθόδου ως μια μηχανιστική ερμηνεία των θερμικών ορίων με βιοενεργητικούς όρους. Εν κατακλείδι, τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν αποτελούν μια τεκμηριωμένη και υποσχόμενη προσέγγιση τόσο της μελέτης των σχέσεων που συνδέουν τον μεταβολισμό με τη θερμοκρασία όσο και της χρήσης τους ως εργαλεία πρόβλεψης της αύξησης του βάρους, του μεταβολικού ρυθμού, και της σωματικής σύστασης των ψαριών υπό διαφορετικές συνθήκες συνεισφέροντας έτσι στη διαχείριση της υδατοκαλλιέργειας και στην προσαρμογή στην κλιματική αλλαγή.

## Βιβλιογραφία

Adloff, F., Somot, S., Sevault, F., Jordà, G., Aznar, R., Déqué, M., Herrmann, M., Marcos, M., Dubois, C., Padorno, E., Alvarez-Fanjul, E., Gomis, D., 2015. Mediterranean Sea response to climate change in an ensemble of twenty first century scenarios. Clim Dyn 45, 2775–2802. https://doi.org/10.1007/s00382-015-2507-3

Alami-Durante, H., Rouel, M., Kentouri, M., 2006. New insights into temperature-induced white muscle growth plasticity during *Dicentrarchus labrax* early life: A developmental and allometric study. Mar Biol 149, 1551–1565. https://doi.org/10.1007/s00227-006-0304-6

Amitrano, C., Chirico, G.B., De Pascale, S., Rouphael, Y., De Micco, V., 2020. Crop management in Controlled Environment Agriculture (CEA) systems using predictive mathematical models. Sensors 20, 3110. https://doi.org/10.3390/s20113110

Andreassen, A.H., Hall, P., Khatibzadeh, P., Jutfelt, F., Kermen, F., 2020. Neural dysfunction at the upper thermal limit in the zebrafish. Preprint from bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2020.12.28.424529

Angel, D.L., 2013. Marine aquaculture in the Mediterranean, in: Christou, P., Savin, R., Costa-Pierce, B.A., Misztal, I., Whitelaw, C.B.A. (Eds.), Sustainable Food Production. Springer, New York, NY, pp. 1121–1138. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5797-8\_182

Antonopoulou, E., Chatzigiannidou, I., Feidantsis, K., Kounna, C., Chatzifotis, S., 2020a. Effect of water temperature on cellular stress responses in meagre (*Argyrosomus regius*). Fish Physiol Biochem 46, 1075–1091. https://doi.org/10.1007/s10695-020-00773-0

Antonucci, F., Costa, C., 2020. Precision aquaculture: a short review on engineering innovations. Aquacult Int 28, 41–57. https://doi.org/10.1007/s10499-019-00443-w

Arcus, V.L., Mulholland, A.J., 2020. Temperature, dynamics, and enzyme-catalyzed reaction rates. Annu. Rev. Biophys. 49, 163–180. https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-121219-081520

Atkinson, D., Sibly, R.M., 1997. Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. Trends Ecol Evol 12, 235–239. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01058-6 Augustine, S., Litvak, M.K., Kooijman, S.A.L.M., 2011. Stochastic feeding of fish larvae and their metabolic handling of starvation. J Sea Res 66, 411–418. https://doi.org/10.1016/j.seares.2011.07.006

Azaza, M., Dhraief, M.N., 2020. Modeling the effects of water temperature on growth rates, gastric evacuation and the return of appetite in juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. J Agric Sci 12, 1916-9760. https://doi.org/10.5539/jas.v12n8p191

Azeredo, R., Machado, M., Afonso, A., Fierro-Castro, C., Reyes-López, F.E., Tort, L., Gesto, M., Conde-Sieira, M., Míguez, J.M., Soengas, J.L., Kreuz, E., Wuertz, S., Peres, H., Oliva-Teles, A., Costas, B., 2017. Neuroendocrine and immune responses undertake different fates following tryptophan or methionine dietary treatment: tales from a teleost model. Front Immunol 8, 1226. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01226

Azra, M.N., Mohamad, A., Hidir, A., Taufik, M., Abol-Munafi, A.B., Ikhwanuddin, M., 2020. Critical thermal maxima of two species of intertidal crabs, *Scylla olivacea* and *Thalamita crenata* at different acclimation temperatures. Aquac Rep 17, 100301. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100301

Azzurro, E., Sbragaglia, V., Cerri, J., Bariche, M., Bolognini, L., Ben Souissi, J., Busoni, G., Coco, S., Chryssanthi, A., Fanelli, E., Ghanem, R., Garrabou, J., Gianni, F., Grati, F., Kolitari, J., Letterio, G., Lipej, L., Mazzoldi, C., Milone, N., Pannacciulli, F., Pešić, A., Samuel-Rhoads, Y., Saponari, L., Tomanic, J., Eda Topçu, N., Vargiu, G., Moschella, P., 2019. Climate change, biological invasions, and the shifting distribution of Mediterranean fishes: A large-scale survey based local ecological knowledge. Glob Chang Biol 25. 2779-2792. on https://doi.org/10.1111/gcb.14670

Bagdonas, K., Nika, N., Bristow, G., Jankauskienė, R., Salytė, A., Kontautas, A., 2011. First record of *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from the southeastern Baltic Sea (Lithuania). Journal Appl Ichthyol 27, 1390–1391. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01817.x

Baldissera, M.D., de Freitas Souza, C., Val, A.L., Baldisserotto, B., 2020. Involvement of purinergic signaling in the Amazon fish *Pterygoplichthys pardalis* subjected to handling stress: Relationship with immune response. Aquaculture 514, 734481. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734481

Barange, M., Bahri, T., Beveridge, M.C.M., Cochrane, K.L., Funge-Smith, S., Poulain, F., 2018. Impacts of climate change on fisheries and aquaculture: synthesis of currrent knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper (FAO) eng no. 627.

Barredo, J.I., Mauri, A., Caudullo, G., Dosio, A., 2018. Assessing shifts of Mediterranean and arid climates under RCP4.5 and RCP8.5 climate projections in Europe. Pure Appl. Geophys. 175, 3955–3971. https://doi.org/10.1007/s00024-018-1853-6

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. https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517

Beitinger, T.L., Lutterschmidt, W.I., 2011. Temperature: measures of thermal tolerance, in: Farrell, A.P. (Ed.), Encyclopedia of Fish Physiology. Academic Press, San Diego, pp. 1695–1702. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00200-8

Belkin, I.M., 2009. Rapid warming of large marine ecosystems. Prog Oceanogr 81, 207–213. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2009.04.011

Bennett, W.A., Beitinger, T.L., 1997. Temperature tolerance of the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. Copeia 1997, 77–87. https://doi.org/10.2307/1447842

Bernhardt, J.R., Sunday, J.M., O'Connor, M.I., 2018. Metabolic theory and the temperature-tize rule explain the temperature dependence of population carrying capacity. Am Nat 192, 687–697. https://doi.org/10.1086/700114

Beuvard, C., Imsland, A.K.D., Thorarensen, H., 2022. The effect of temperature on growth performance and aerobic metabolic scope in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). J Therm Biol 104, 103117. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103117

Bin Ashoor, B., Giwa, A., Hasan, S., 2019. Full-scale membrane distillation systems and performance improvement through modeling: A Review. In: Current trends and future developments on (bio-) membranes. Elsevier, pp. 105–140. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813551-8.00001-2

Bouaziz, M., Bejaoui, S., Rabeh, I., Besbes, R., El Cafsi, M. 'Hamed, Falcon, J., 2017. Impact of temperature on sea bass, *Dicentrarchus labrax* retina: fatty acid composition, expression of rhodopsin and enzymes of lipid and melatonin metabolism. Exp Eye Res 159, 87–97. https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.03.010 Brauner, C.J., Richards, J.G., 2020a. Chapter 3 - Physiological performance in aquaculture: Using physiology to help define optimal conditions for growth and environmental tolerance, in: Benfey, T.J., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), Fish Physiology, Aquaculture. Academic Press, pp. 83–121. https://doi.org/10.1016/bs.fp.2020.10.001

Breck, J.E., 2014. Body composition in fishes: body size matters. Aquaculture 433, 40–49. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.049

Brigolin, D., Meccia, V., Venier, C., Tomassetti, P., Porrello, S., Pastres, R., 2014. Modelling biogeochemical fluxes across a Mediterranean fish cage farm. Aquac Environ Interact 5, 71–88. https://doi.org/10.3354/aei00093

Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B., 2004. Response to forum commentary on "Toward a Metabolic Theory of Ecology." Ecology 85, 1818–1821.

Bujan, J., Kaspari, M., 2017. Nutrition modifies critical thermal maximum of a dominant canopy ant. J Insect Physiol 102, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2017.08.007

Buoro, M., Olden, J.D., Cucherousset, J., 2016. Global Salmonidae introductions reveal stronger ecological effects of changing intraspecific compared to interspecific diversity. Ecol Lett 19, 1363–1371. https://doi.org/10.1111/ele.12673

Cai, L.-S., Wang, L., Song, K., Lu, K.-L., Zhang, C.-X., Rahimnejad, S., 2020. Evaluation of protein requirement of spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) under two temperatures, and the liver transcriptome response to thermal stress. Aquaculture 516, 734615. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734615

Cárdenas, S., 2011. Cultivo de Corvina (*Argyrosomus regius*). Colección Cuadernos de Acuicultura, nº 3. FOESA, CSIC y MARM. Madrid, España, pp 6–96.

Cascarano, M.C., Stavrakidis-Zachou, O., Mladineo, I., Thompson, K.D., Papandroulakis, N., Katharios, P., 2021. Mediterranean aquaculture in a changing climate: temperature effects on pathogens and diseases of three farmed fish species. Pathogens 10, 1205. https://doi.org/10.3390/pathogens10091205

Casillas, E., Smith, L.S., 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Biol 10, 481–491. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04081.x

Chabot, D., Steffensen, J.F., Farrell, A.P., 2016. The determination of standard metabolic rate in fishes. J Fish Biol 88, 81–121. https://doi.org/10.1111/jfb.12845

Chahid, A., N'Doye, I., Majoris, J.E., Berumen, M.L., Laleg-Kirati, T.-M., 2022. Fish growth trajectory tracking using Q-learning in precision aquaculture. Aquaculture 550, 737838. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737838

Chatzifotis, S., Clavero, S., Kounna, C., Soumalevris, A., Feidantsis, K., Antonopoulou, E., 2018. Effects of long-term feed deprivation on body weight loss, muscle composition, plasma metabolites, and intermediate metabolism of meagre (*Argyrosomus regius*) under different water temperatures. Fish Physiol Biochem 44, 527–542. https://doi.org/10.1007/s10695-017-0451-3

Cheng, C.-H., Guo, Z.-X., Luo, S.-W., Wang, A.-L., 2018. Effects of high temperature on biochemical parameters, oxidative stress, DNA damage and apoptosis of pufferfish (*Takifugu obscurus*). Ecotoxicol and Environ Saf 150, 190–198. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.045

Chidawanyika, F., Nyamukondiwa, C., Strathie, L., Fischer, K., 2017. Effects of thermal regimes, starvation and age on heat tolerance of the parthenium beetle Zygogramma bicolorata (Coleoptera: Chrysomelidae) following dynamic and static protocols. PLoS One 12, e0169371. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169371

Chistiakov, D.A., Hellemans, B., Haley, C.S., Law, A.S., Tsigenopoulos, C.S., Kotoulas, G., Bertotto, D., Libertini, A., Volckaert, F.A.M., 2005. A Microsatellite linkage map of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Genetics 170, 1821–1826. https://doi.org/10.1534/genetics.104.039719

Christensen, E.A.F., Svendsen, M.B.S., Steffensen, J.F., 2020. The combined effect of body size and temperature on oxygen consumption rates and the size-dependency of preferred temperature in European perch *Perca fluviatilis*. J Fish Biol 97, 794–803. https://doi.org/10.1111/jfb.14435

Claireaux, G., Couturier, C., Groison, A.-L., 2006. Effect of temperature on maximum swimming speed and cost of transport in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). J Exp Biol 209, 3420–3428. https://doi.org/10.1242/jeb.02346

Claireaux, G., Lagardère, J.-P., 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. J Sea Res 42, 157–168. https://doi.org/10.1016/S1385-1101(99)00019-2

Claunch, N.M., Nix, E., Royal, A.E., Burgos, L.P., Corn, M., DuBois, P.M., Ivey, K.N., King, E.C., Rucker, K.A., Shea, T.K., Stepanek, J., Vansdadia, S., Taylor, E.N., 2021. Body size

impacts critical thermal maximum measurements in lizards. J Exp Zool 335, 96–107. https://doi.org/10.1002/jez.2410

Claussen, D., 1977. Thermal acclimation in ambystomatid salamanders. Comp Biochem Physiol A: Physiology 58, 333–340. https://doi.org/10.1016/0300-9629(77)90150-5

Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F.B.R., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., Dailianis, T., Danovaro, R., Estrada, M., Froglia, C., Galil, B.S., Gasol, J.M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., Kitsos, M.-S., Koukouras, A., Lampadariou, N., Laxamana, E., Cuadra, C.M.L.-F. de la, Lotze, H.K., Martin, D., Mouillot, D., Oro, D., Raicevich, S., Rius-Barile, J., Saiz-Salinas, J.I., Vicente, C.S., Somot, S., Templado, J., Turon, X., Vafidis, D., Villanueva, R., Voultsiadou, E., 2010. The biodiversity of the Mediterranean Sea: PLoS One 5, estimates, patterns, and threats. e11842. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842

Collins, C., Bresnan, E., Brown, L., Falconer, L., Guilder, J., Jones, L., Kennerley, A., Malham, S., Murray, A., Stanley, M., 2020. Impacts of climate change on aquaculture. Marine Climate Change Impacts Partnership, Lowestoft, pp. 482–520.

Cooper, G.M., 2000. The central role of enzymes as biological catalysts. The cell: A molecular approach. 2nd edition. Sunderland (MA).

Cowles, R.B., Bogert, C.M. 1944. A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. Bulletin of the AMNH, v. 83, article 5. Reptile thermal requirements.

Crapse, J., Pappireddi, N., Gupta, M., Shvartsman, S.Y., Wieschaus, E., Wühr, M., 2021. Evaluating the Arrhenius equation for developmental processes. Mol Syst Biol. 17(8):e9895. https://doi.org/10.15252/msb.20209895.

Crozier, L.G., Hutchings, J.A., 2014. Plastic and evolutionary responses to climate change in fish. Evol Appl 7, 68–87. https://doi.org/10.1111/eva.12135

Daniel, R.M., Peterson, M.E., Danson, M.J., Price, N.C., Kelly, S.M., Monk, C.R., Weinberg, C.S., Oudshoorn, M.L., Lee, C.K., 2009. The molecular basis of the effect of temperature on enzyme activity. Biochem 425, 353–360. https://doi.org/10.1042/BJ20091254

de Freitas Souza, C., Baldissera, M.D., Barroso, D.C., Val, A.L., Baldisserotto, B., 2020. Purine levels and purinergic signaling in plasma and spleen of Brycon amazonicus exposed to acute heat thermal stress: An attempt to regulate the immune response. J Therm Biol 89, 102569. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102569 De, M., Ghaffar, M.Abd., Bakar, Y., Das, S.K., 2016. Effect of temperature and diet on growth and gastric emptying time of the hybrid, *Epinephelus fuscoguttatus*  $\Im \times E$ . *lanceolatus*  $\Im$ . Aquac Rep 4, 118–124. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.08.002

Deng, K., Pan, M., Liu, J., Yang, M., Gu, Z., Zhang, Y., Liu, G., Liu, D., Zhang, W., 2018. Chronic stress of high dietary carbohydrate level causes inflammation and influences glucose transport through SOCS3 in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Sci Rep 8:7415. https://doi.org/10.1038/s41598-018-25412-w

Di Santo, V., Lobel, P.S., 2017. Body size and thermal tolerance in tropical gobies. J Exp Mar Biol Ecol 487, 11–17. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2016.11.007

Dong, S., Wang, F., Zhang, D., Yu, L., Pu, W., Shang, Y., 2022. Growth performance and ecological services evaluation of razor clams based on dynamic energy budget model. J Environ Manag 306, 114392. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114392

Douglas-Smith, D., Iwanaga, T., Croke, B.F.W., Jakeman, A.J., 2020. Certain trends in uncertainty and sensitivity analysis: An overview of software tools and techniques. Environ Model Soft 124, 104588. https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2019.104588

Dülger, N., Kumlu, M., Türkmen, S., Ölçülü, A., Tufan Eroldoğan, O., Asuman Yılmaz, H., Öçal, N., 2012. Thermal tolerance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles acclimated to three temperature levels. J Therm Biol 37, 79–82. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.11.003

Dumas, A., France, J., Bureau, D., 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? Aquac Res 41, 161–181. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02323.x

Duncan, N.J., Estevez, A., Fernández-Palacios, H., Gairin, I., Hernandez-Cruz, M., Roo, J., Schuchardt, D., Vallés, R., 2013. Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): Hatchery techniques, ongrowing and market, in: Advances in Aquaculture Hatchery Technology. pp. 519–541. https://doi.org/10.1533/9780857097460.3.519

Eisenthal, R., Peterson, M.E., Daniel, R.M., Danson, M.J., 2006. The thermal behaviour of enzyme activity: implications for biotechnology. Trends in Biotechnol 24, 289–292. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.05.004

Ejbye-Ernst, R., Michaelsen, T.Y., Tirsgaard, B., Wilson, J.M., Jensen, L.F., Steffensen, J.F., Pertoldi, C., Aarestrup, K., Svendsen, J.C., 2016. Partitioning the metabolic scope: the

importance of anaerobic metabolism and implications for the oxygen- and capacity-limited thermal tolerance (OCLTT) hypothesis. Conserv Physiol 4, cow019. https://doi.org/10.1093/conphys/cow019

Eldridge, W.H., Sweeney, B.W., Law, J.M., 2015. Fish growth, physiological stress, and tissue condition in response to rate of temperature change during cool or warm diel thermal cycles. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 72, 1527–1537. https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0350

EL-Shebly, A., El-kady, M., Hussin, A., Hossain, Md.Y., 2007. Preliminary Observations on the Pond Culture of Meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Sciaenidae) in Egypt. J Fish Aquatic Sci 2, 345–352. https://doi.org/10.3923/jfas.2007.345.352

Ern, R., Norin, T., Gamperl, A.K., Esbaugh, A.J., 2016. Oxygen dependence of upper thermal limits in fishes. J Exp Biol 219, 3376–3383. https://doi.org/10.1242/jeb.143495

Falconer, L., Hjøllo, S.S., Telfer, T.C., McAdam, B.J., Hermansen, Ø., Ytteborg, E., 2020. The importance of calibrating climate change projections to local conditions at aquaculture sites. Aquaculture 514, 734487. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734487

Fanouraki, E., Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Pavlidis, M., 2011. Species specificity in the magnitude and duration of the acute stress response in Mediterranean marine fish in culture. Gen Comp Endocrinol 173, 313–322. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.06.004

FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. FAO. https://doi.org/10.4060/ca9229en

FAO, 2016. FAO. (2016). Food and Agriculture Organization yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2014. Rome, Italy.

Faught, E., Vijayan, M.M., 2016. Mechanisms of cortisol action in fish hepatocytes. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 199, 136–145. https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2016.06.012

FEAP, 2019. Federation of European Aquaculture Producers. European Aquaculture Production Report 2014-2019.

Feidantsis, K., Antonopoulou, E., Lazou, A., Pörtner, H.O., Michaelidis, B., 2013. Seasonal variations of cellular stress response of the gilthead sea bream (Sparus aurata). J Comp Physiol B 183, 625–639. https://doi.org/10.1007/s00360-012-0735-y

Feidantsis, K., Georgoulis, I., Zachariou, A., Campaz, B., Christoforou, M., Pörtner, H.O., Michaelidis, B., 2020. Energetic, antioxidant, inflammatory and cell death responses in the red muscle of thermally stressed Sparus aurata. J Comp Physiol B 190, 403–418. https://doi.org/10.1007/s00360-020-01278-1

Feidantsis, K., Pörtner, H.-O., Antonopoulou, E., Michaelidis, B., 2015. Synergistic effects of acute warming and low pH on cellular stress responses of the gilthead seabream Sparus aurata. J Comp Physiol B 185, 185–205. https://doi.org/10.1007/s00360-014-0875-3

Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem 226, 497–509.

Føre, M., Alver, M., Alfredsen, J.A., Marafioti, G., Senneset, G., Birkevold, J., Willumsen, F.V., Lange, G., Espmark, Å., Terjesen, B.F., 2016. Modelling growth performance and feeding behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in commercial-size aquaculture net pens: Model details and validation through full-scale experiments. Aquaculture 464, 268–278. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.045

Føre, M., Frank, K., Norton, T., Svendsen, E., Alfredsen, J.A., Dempster, T., Eguiraun, H., Watson, W., Stahl, A., Sunde, L.M., Schellewald, C., Skøien, K.R., Alver, M.O., Berckmans, D., 2017. Precision fish farming: A new framework to improve production in aquaculture. Biosyst Eng. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2017.10.014

Forgati, M., Kandalski, P.K., Herrerias, T., Zaleski, T., Machado, C., Souza, M.R.D.P., Donatti, L., 2017. Effects of heat stress on the renal and branchial carbohydrate metabolism and antioxidant system of Antarctic fish. J Comp Physiol B 187, 1137–1154. https://doi.org/10.1007/s00360-017-1088-3

Forster, J., Hirst, A.G., Atkinson, D., 2012. Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. Proceedings of the National Academy of Sciences 109, 19310–19314. https://doi.org/10.1073/pnas.1210460109

Fountoulaki, E., Grigorakis, K., Kounna, C., Rigos, G., Papandroulakis, N., Diakogeorgakis, J., Kokou, F., 2017. Growth performance and product quality of meagre (*Argyrosomus regius*) fed diets of different protein/lipid levels at industrial scale. Ital JAnim Sci 16, 1–10. https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1305259

Freitas, V., Cardosa, J.M.F., Lika, D., Peck, M., Campos, J., Kooijman, S.A.L.M., Veer, H.W. van der, 2010. Temperature tolerance and energetics, a Dynamic Energy Budget-based comparison of North Atlantic marine species. Phil. Trans. R. Soc. B 365, 3553–3565.

Frölicher, T.L., Fischer, E.M., Gruber, N., 2018. Marine heatwaves under global warming. Nature 560, 360–364. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0383-9

Gamperl, A.K., Ajiboye, O.O., Zanuzzo, F.S., Sandrelli, R.M., Peroni, E. de F.C., Beemelmanns, A., 2020. The impacts of increasing temperature and moderate hypoxia on the production characteristics, cardiac morphology and haematology of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 519, 734874. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734874

Gamperl, A.K., Farrell, A.P., 2004. Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences. J Exp Biol 207, 2539–2550. https://doi.org/10.1242/jeb.01057

Garcia, R.A., Clusella-Trullas, S., 2019. Thermal landscape change as a driver of ectotherm responses to plant invasions. Proc R Soc B: Biol Sci 286, 20191020. https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1020

Garcia-Pineda, M., Sendra, S., Lloret, J., Lloret, G., 2011. Monitoring and control sensor system for fish feeding in marine fish farms. IET Commun 5, 1682–1690. https://doi.org/10.1049/iet-com.2010.0654

Garcias-Bonet, N., Arrieta, J.M., Duarte, C.M., Marbà, N., 2016. Nitrogen-fixing bacteria in Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) roots. Aquat Bot 131, 57–60. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2016.03.002

Garrabou, J., Gómez-Gras, D., Ledoux, J.-B., Linares, C., Bensoussan, N., López-Sendino, P., Bazairi, H., Espinosa, F., Ramdani, M., Grimes, S., Benabdi, M., Souissi, J.B., Soufi, E., Khamassi, F., Ghanem, R., Ocaña, O., Ramos-Esplà, A., Izquierdo, A., Anton, I., Rubio-Portillo, E., Barbera, C., Cebrian, E., Marbà, N., Hendriks, I.E., Duarte, C.M., Deudero, S., Díaz, D., Vázquez-Luis, M., Alvarez, E., Hereu, B., Kersting, D.K., Gori, A., Viladrich, N., Sartoretto, S., Pairaud, I., Ruitton, S., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Rouanet, E., Teixidó, N., Gattuso, J.-P., Fraschetti, S., Rivetti, I., Azzurro, E., Cerrano, C., Ponti, M., Turicchia, E., Bavestrello, G., Cattaneo-Vietti, R., Bo, M., Bertolino, M., Montefalcone, M., Chimienti, G., Grech, D., Rilov, G., Tuney Kizilkaya, I., Kizilkaya, Z., Eda Topçu, N., Gerovasileiou, V., Sini, M., Bakran-Petricioli, T., Kipson, S., Harmelin, J.G., 2019. Collaborative database to track mass mortality events in the Mediterranean Sea. Front Mar Sci 6. https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00707

Gergs, A., Baden, C.U., 2021. A Dynamic Energy Budget approach for the prediction of development times and variability in *Spodoptera frugiperda* rearing. Insects 12, 300. https://doi.org/10.3390/insects12040300

Gräns, A., Jutfelt, F., Sandblom, E., Jönsson, E., Wiklander, K., Seth, H., Olsson, C., Dupont, S., Ortega-Martinez, O., Einarsdottir, I., Björnsson, B.T., Sundell, K., Axelsson, M., 2014. Aerobic scope fails to explain the detrimental effects on growth resulting from warming and elevated CO2 in Atlantic halibut. J Exp Biol 217, 711–717. https://doi.org/10.1242/jeb.096743

Groenewald, G., 2021. Developing dynamic energy budget (DEB) models for small pelagic fishes in the Southern Benguela. PhD thesis. Faculty of Science, Department of Biological Sciences. http://hdl.handle.net/11427/35555

Guerreiro, I., Peres, H., Castro-Cunha, M., Oliva-Teles, A., 2012. Effect of temperature and dietary protein/lipid ratio on growth performance and nutrient utilization of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Aquac Nutr 18, 98–106. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00884.x

Haffray, P., Malha, R., Ould Taleb Sidi, M., Prista, N., Hassan, M., Castelnaud, G., Karahan-Nomm, B., Gamsiz, K., Sadek, S., Bruant, J.-S., Balma, P., Bonhomme, F., 2012. Very high genetic fragmentation in a large marine fish, the meagre Argyrosomus regius (Sciaenidae, Perciformes): impact of reproductive migration, oceanographic barriers and ecological factors. Aquat Liv Res 25, 173–183. https://doi.org/10.1051/alr/2012016

Haider, F., Timm, S., Bruhns, T., Noor, M.N., Sokolova, I.M., 2020. Effects of prolonged food limitation on energy metabolism and burrowing activity of an infaunal marine bivalve, Mya arenaria. Comp Biochem Physiol A: Mol Integr Physiol 250, 110780. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110780

Hanson, P., Johnson, T., Schindler, D., Kitchell, J., 1997. Fish bioenergetics 3.0. University of Wisconsin, Sea Grant Institute. WISCU.

Hewett, S.W., Johnson, B.L., 1992. Fish bioenergetics model 2. University of Wisconsin, Sea Grant Institute, WIS-SG-92-250, Madison, Wisconsin, USA.

Hobday, A.J., Alexander, L.V., Perkins, S.E., Smale, D.A., Straub, S.C., Oliver, E.C.J., Benthuysen, J.A., Burrows, M.T., Donat, M.G., Feng, M., Holbrook, N.J., Moore, P.J., Scannell, H.A., Sen Gupta, A., Wernberg, T., 2016. A hierarchical approach to defining marine heatwaves. Prog Oceanogr 141, 227–238. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2015.12.014

IPCC, 2018. Global warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change,

sustainable development, and efforts to eradicate poverty [Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pörtner, H.-O., Roberts, D., Skea, J., Shukla, P., Pirani, A., Moufouma-Okia, W., Péan, C., Pidcock, R., Connors, S., Matthews, R., Chen, Y., Zhou, X., Gomis, M., Lonnoy, E., Maycock, T., Tignor, M., Tabatabaei, M., (eds.)]. https://ipcc.ch/reports/sr15/

Islam, M.J., Kunzmann, A., Bögner, M., Meyer, A., Thiele, R., James Slater, M., 2020a. Metabolic and molecular stress responses of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* at low and high temperature extremes. Ecol Indic 112, 106118. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106118

Islam, M.J., Kunzmann, A., Thiele, R., Slater, M.J., 2020b. Effects of extreme ambient temperature in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* acclimated at different salinities: Growth performance, metabolic and molecular stress responses. Sci Tot Environ 735, 139371. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139371

Islam, M.J., Slater, M.J., Bögner, M., Zeytin, S., Kunzmann, A., 2020c. Extreme ambient temperature effects in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Growth performance and hematobiochemical parameters. Aquaculture 522, 735093. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735093.8

Jager, H.I., 2014. Thinking outside the channel: Timing pulse flows to benefit salmon via indirect pathways. Ecol Model 273, 117–127. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.11.007

Jantarakasem, C., Kasuga, I., Kurisu, F., Furumai, H., 2020. Temperature-dependent ammonium removal capacity of biological activated carbon used in a full-scale drinking water treatment Plant. Environ. Sci. Technol. 54, 13257–13263. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02502

Jauralde, I., Velazco-Vargas, J., Tomás-Vidal, A., Jover Cerdá, M., Martínez-Llorens, S., 2021. Protein and energy requirements for maintenance and growth in juvenile meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Sciaenidae). Animals 11, 77. https://doi.org/10.3390/ani11010077

Javal, M., Thomas, S., Lehmann, P., Barton, M.G., Conlong, D.E., Du Plessis, A., Terblanche, J.S., 2019. The effect of oxygen limitation on a xylophagous insect's heat tolerance is influenced by life-Stage through variation in aerobic scope and respiratory anatomy. Front Physiol 10, 1664-042X. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01426 Jia, Y., Chen, X., Wang, Z., Meng, Z., Huang, B., Guan, C., 2020. Physiological response of juvenile turbot (Scophthalmus maximus. L) during hyperthermal stress. Aquaculture 529, 735645. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735645

Johansen, J.L., Nadler, L.E., Habary, A., Bowden, A.J., Rummer, J., 2021. Thermal acclimation of tropical coral reef fishes to global heat waves. eLife 10, e59162. https://doi.org/10.7554/eLife.59162

Jones, B.J., Iii, R.L.E., Mylrea, N.J., Chaudhury, D., Luo, C., Guan, B., Pierce, C.T., Gordon, W.R., Wilmot, C.M., Kazlauskas, R.J., 2020. Larger active site in an ancestral hydroxynitrile lyase increases catalytically promiscuous esterase activity. PLoS One 15, e0235341. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235341

Jørgensen, C., Enberg, K., Mangel, M., 2016. Modelling and interpreting fish bioenergetics: a role for behaviour, life-history traits and survival trade-offs. J Fish Biol 88, 389–402. https://doi.org/10.1111/jfb.12834

Jutfelt, F., 2020. Metabolic adaptation to warm water in fish. Funct Ecol 34, 1138–1141. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13558

Jutfelt, F., Norin, T., Ern, R., Overgaard, J., Wang, T., McKenzie, D.J., Lefevre, S., Nilsson, G.E., Metcalfe, N.B., Hickey, A.J.R., Brijs, J., Speers-Roesch, B., Roche, D.G., Gamperl, A.K., Raby, G.D., Morgan, R., Esbaugh, A.J., Gräns, A., Axelsson, M., Ekström, A., Sandblom, E., Binning, S.A., Hicks, J.W., Seebacher, F., Jørgensen, C., Killen, S.S., Schulte, P.M., Clark, T.D., 2018. Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance: blurring ecology and physiology. J Exp Biol 221, jeb169615. https://doi.org/10.1242/jeb.169615

Jutfelt, F., Roche, D.G., Clark, T.D., Norin, T., Binning, S.A., Speers-Roesch, B., Amcoff, M., Morgan, R., Andreassen, A.H., Sundin, J., 2019. Brain cooling marginally increases maximum thermal tolerance in Atlantic cod. J Exp Biol 222, jeb208249. https://doi.org/10.1242/jeb.208249

Kassahn, K.S., Crozier, R.H., Pörtner, H.O., Caley, M.J., 2009. Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organisation. Biol Rev Camb Philos Soc 84, 277–292. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00073.x

Keen, A.N., Fenna, A.J., McConnell, J.C., Sherratt, M.J., Gardner, P., Shiels, H.A., 2015. The dynamic nature of hypertrophic and fibrotic remodeling of the fish ventricle. Front Physiol 6, 427. https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00427 Khan, U., Seyhan, K., 2021. Parameterizing an expanded square root model to account for the effects of temperature, meal size, and body size on gastric evacuation rate in farmed brown trout. Aquac Res 52, 4849–4857. https://doi.org/10.1111/are.15318

Killen, S.S., Adriaenssens, B., Marras, S., Claireaux, G., Cooke, S.J., Franklin, C., 2016. Context dependency of trait repeatability and its relevance for management and conservation of fish populations. Conserv Physiol 4, cow007. https://doi.org/10.1093/conphys/cow007

Kim, J.H., Kim, S.K., Hur, Y.B., 2019. Temperature-mediated changes in stress responses,acetylcholinesterase, and immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* in abio-flocenvironment.Aquaculture506,453–458.https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.045

Kingsolver, J.G., Umbanhowar, J., 2018. The analysis and interpretation of critical temperatures. J Exp Biol 221, jeb167858. https://doi.org/10.1242/jeb.167858

Kır, M., 2020. Thermal tolerance and standard metabolic rate of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) acclimated to four temperatures. J Therm Biol 93, 102739. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102739

Kır, M., Sunar, M.C., Altındağ, B.C., 2017. Thermal tolerance and preferred temperature range of juvenile meagre acclimated to four temperatures. J Therm Biol 65, 125–129. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.02.018

Klepsatel, P., Gáliková, M., Xu, Y., Kühnlein, R.P., 2016. Thermal stress depletes energy reserves in Drosophila. Sci Rep 6, 33667. https://doi.org/10.1038/srep33667

Klompmaker, A.A., Jakobsen, S.L., Lauridsen, B.W., 2016. Evolution of body size, vision, and biodiversity of coral-associated organisms: evidence from fossil crustaceans in cold-water coral and tropical coral ecosystems. BMC Evol Biol 16, 132. https://doi.org/10.1186/s12862-016-0694-0

Kobayashi, M., Msangi, S., Batka, M., Vannuccini, S., Dey, M.M., Anderson, J.L., 2015. Fish to 2030: The Role and Opportunity for Aquaculture. Aquac Econ Manag 19, 282–300. https://doi.org/10.1080/13657305.2015.994240

Koch, J., De Schamphelaere, K.A.C., 2020. Estimating inter-individual variability of dynamic energy budget model parameters for the copepod *Nitocra spinipes* from existing life-history data. Ecol Model 431, 109091. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109091

Koenigstein, S., Mark, F.C., Gößling-Reisemann, S., Reuter, H., Poertner, H.-O., 2016. Modelling climate change impacts on marine fish populations: process-based integration of ocean warming, acidification and other environmental drivers. Fish Fish 17, 972–1004. https://doi.org/10.1111/faf.12155

Kon, K., Shimanaga, M., Horinouchi, M., 2020. Marine Ecology: Intertidal/Littoral Zone, in: Inaba, K., Hall-Spencer, J.M. (Eds.), Japanese marine mife: A practical training guide in marine biology. Springer, Singapore, pp. 241–254. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1326-8\_20

Kooijman, S.A.L.M., 2017. Models in stress research. Ecol Comp 34, 161–177. https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2017.07.006

Kooijman, S.A.L.M., 2014. Metabolic acceleration in animal ontogeny: An evolutionary perspective. J Sea Res 94, 128–137. https://doi.org/10.1016/j.seares.2014.06.005

Kooijman, S.A.L.M., 2010. Dynamic Energy Budget Theory for Metabolic Organisation. Cambridge University Press. Cambridge, New York, NY, USA.

Kooijman, S.A.L.M., 1993. Dynamic energy budgets in biological systems: theory and applications in ecotoxicology. Cambridge University Press, Cambridge, New York, NY, USA.

Kooijman, S.A.L.M., Augustine, S., 2022. The comparative energetics of the cephalopods: they neither grow nor reproduce fast. J Sea Res 184, 102205. https://doi.org/10.1016/j.seares.2022.102205

Kooijman, S.A.L.M., Lika, K., 2014a. Comparative energetics of the 5 fish classes on the basis of dynamic energy budgets. J Sea Res 94, 19–28. https://doi.org/10.1016/j.seares.2014.01.015

Kooijman, S.A.L.M., Lika, K., 2014b. Resource allocation to reproduction in animals. Biol Rev 89, 849–859. https://doi.org/10.1111/brv.12082

Korte, S.M., Olivier, B., Koolhaas, J.M., 2007. A new animal welfare concept based on allostasis. Physiol Behav 92, 422–428. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.10.018

Kottelat, M., Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat.

Kounna, C., Fountoulaki, E., Miliou, H., Chatzifotis, S., 2021. Water temperature effects on growth performance, proximate body and tissue composition, morphometric characteristics and gastrointestinal evacuation processes of juvenile meagre, *Argyrosomus regius* (Asso 1801). Aquaculture 540, 736683. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736683

Kregel, K.C., 2002. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. J Appl Physiol 92, 2177–2186. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01267.2001

Kültz, D., 2005. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. Annu Rev Physiol 67, 225–257. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.040403.103635

Lavaud, R., Filgueira, R., Nadeau, A., Steeves, L., Guyondet, T., 2020. A Dynamic Energy Budget model for the macroalga *Ulva lactuca*. Ecol Model 418, 108922. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108922

Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). J Anim Ecol 20, 201–219. https://doi.org/10.2307/1540

Le Traon, P.Y.L., Reppucci, A., Fanjul, E.A., Aouf, L., Behrens, A., Belmonte, M., Bentamy, A., Bertino, L., Brando, V.E., Kreiner, M.B., Benkiran, M., Carval, T., Ciliberti, S.A., Claustre, H., Clementi, E., Coppini, G., Cossarini, G., Alonso-Muñoyerro, M.D.A., Delamarche, A., Dibarboure, G., Dinessen, F., Drevillon, M., Drillet, Y., Faugere, Y., Fernández, V., Fleming, A., Garcia-Hermosa, M.I., Sotillo, M.G., Garric, G., Gasparin, F., Giordan, C., Gehlen, M., Gregoire, M.L., Guinehut, S., Hamon, M., Harris, C., Hernandez, F., Hinkler, J.B., Hoyer, J., Karvonen, J., Kay, S., King, R., Lavergne, T., Lemieux-Dudon, B., Lima, L., Mao, C., Martin, M.J., Masina, S., Melet, A., Nardelli, B.B., Nolan, G., Pascual, A., Pistoia, J., Palazov, A., Piolle, J.F., Pujol, M.I., Pequignet, A.C., Peneva, E., Gómez, B.P., Villeon, L.P. de la, Pinardi, N., Pisano, A., Pouliquen, S., Reid, R., Remy, E., Santoleri, R., Siddorn, J., She, J., Staneva, J., Stoffelen, A., Tonani, M., Vandenbulcke, L., Schuckmann, K. von, Volpe, G., Wettre, C., Zacharioudaki, A., 2019. From observation to information and Users: The Copernicus Marine Service perspective. Front Mar Sci 6, 234. https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00234

Lefevre, S., McKenzie, D.J., Nilsson, G.E., 2017. Models projecting the fate of fish populations under climate change need to be based on valid physiological mechanisms. Glob Chang Biol 23, 3449–3459. https://doi.org/10.1111/gcb.13652

Leonard, J.N., Skov, P.V., 2022. Capacity for thermal adaptation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects on oxygen uptake and ventilation. J Therm Biol 105, 103206. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103206 Lešić, V., Novak, H., Ratković, M., Zovko, M., Lemić, D., Skendžić, S., Tabak, J., Polić, M., Orsag, M., 2021. Rapid plant development modelling dystem for predictive agriculture based on artificial intelligence, in: 2021 16th International Conference on Telecommunications (Con<sup>TEL</sup>), pp. 173–180. https://doi.org/10.23919/Con<sup>TEL</sup>52528.2021.9495972

Lika, K., Augustine, S., Kooijman, S.A.L.M., 2019. Body size as emergent property of metabolism. J Sea Res 143, 8–17. https://doi.org/10.1016/j.seares.2018.04.005

Lika, K., Kooijman, S.A.L.M., Papandroulakis, N., 2014. Metabolic acceleration in Mediterranean Perciformes. J Sea Res 94, 37–46. https://doi.org/10.1016/j.seares.2013.12.012

Lika, K., Pavlidis, M., Mitrizakis, N., Samaras, A., Papandroulakis, N., 2015. Do experimental units of different scale affect the biological performance of European sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae? J Fish Biol 86, 1271–1285. https://doi.org/10.1111/jfb.12636

Little, A.G., Loughland, I., Seebacher, F., 2020. What do warming waters mean for fish physiology and fisheries? J Fish Biol 97, 328–340. https://doi.org/10.1111/jfb.14402

Liu, Y., Yang, M., Zheng, L., Nguyen, H., Ni, L., Song, S., Sui, Y., 2020. Antioxidant responses of triangle sail mussel *Hyriopsis cumingii* exposed to toxic *Microcystis aeruginosa* and thermal stress. Sci Tot Environ 743, 140754. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140754

Livanou, E., Lagaria, A., Psarra, S., Lika, K., 2019. A DEB-based approach of modeling dissolved organic matter release by phytoplankton. J Sea Res, Ecosystem based management and the biosphere: a new phase in DEB research 143, 140–151. https://doi.org/10.1016/j.seares.2018.07.016

Llorens, S., Pérez-Arjona, I., Soliveres, E., Espinosa, V., 2017. Detection and target strength measurements of uneaten feed pellets with a single beam echosounder. Aquac Eng 78, 216–220. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.10.008

Lloyd, J., Taylor, J.A., 1994. On the temperature dependence of soil respiration. Funct Ecol 8, 315–323. https://doi.org/10.2307/2389824

Lotze, H.K., Tittensor, D.P., Bryndum-Buchholz, A., Eddy, T.D., Cheung, W.W.L., Galbraith, E.D., Barange, M., Barrier, N., Bianchi, D., Blanchard, J.L., Bopp, L., Büchner, M., Bulman, C., Carozza, D.A., Christensen, V., Coll, M., Dunne, J., Fulton, E.A., Jennings, S., Jones, M., Mackinson, S., Maury, O., Niiranen, S., OliverosRamos, R., Roy, T., Fernandes, J.A., Schewe, J., Shin, Y.-J., Silva, T.A.M., Steenbeek, J., Stock, C.A., Verley, P., Volkholz, J., Walker, N.D., 2019. Ensemble projections of global ocean animal biomass with climate change. Proc Nat Acad Sci 116, 12907–12912. https://doi.org/10.1073/pnas.1900194116

Lozano, A.R., Borges, P., Robaina, L., Betancor, M., Hernández-Cruz, C.M., García, J.R., Caballero, M.J., Vergara, J.M., Izquierdo, M., 2017. Effect of different dietary vitamin E levels on growth, fish composition, fillet quality and liver histology of meagre (*Argyrosomus regius*). Aquaculture 468, 175–183. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.006

Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D., 2003. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. Aquaculture 225, 175–189. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00288-6

Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D., 2001. Optimization of feeding regimes for European sea bass *Dicentrarchus labrax*: a factorial approach. Aquaculture 202, 289–302. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00779-7

Lutterschmidt, W.I., Hutchison, V.H., 1997. The critical thermal maximum: history and critique. Can. J. Zool. 75, 1561–1574. https://doi.org/10.1139/z97-783

Ma, G., Tian, Y., Ma, Z., Hao, Q., Li, C., 2018. Computer simulation of growth models of cultured fish: A case study of *Micropterus Salmoides*, in: 2018 3<sup>rd</sup> International Conference on Mechanical, Control and Computer Engineering (ICMCCE), pp. 434–437. https://doi.org/10.1109/ICMCCE.2018.00097

Macaulay, G., Bui, S., Oppedal, F., Dempster, T., 2021. Challenges and benefits of applying fish behaviour to improve production and welfare in industrial aquaculture. Rev Aquac 13, 934–948. https://doi.org/10.1111/raq.12505

Macias, D., Garcia-Gorriz, E., Piroddi, C., Stips, A., 2014. Biogeochemical control of marine productivity in the Mediterranean Sea during the last 50 years. Glob Biogeochem Cycles 28, 897–907. https://doi.org/10.1002/2014GB004846

Madeira, D., Fernandes, J.F., Jerónimo, D., Martins, P., Ricardo, F., Santos, A., Domingues, M.R., Diniz, M.S., Calado, R., 2021. Salinity shapes the stress responses and energy reserves of marine polychaetes exposed to warming: From molecular to functional phenotypes. Sci Tot Environ 795, 148634. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148634 Maffucci, I., Laage, D., Sterpone, F., Stirnemann, G., 2020. Thermal adaptation of enzymes: impacts of conformational shifts on catalytic activation energy and optimum temperature. Chem Eur J 26, 10045–10056. https://doi.org/10.1002/chem.202001973

Maino, J.L., Pirtle, E.I., Kearney, M.R., 2017. The effect of egg size on hatch time and metabolic rate: theoretical and empirical insights on developing insect embryos. Funct Ecol 31, 227–234. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12702

Marbà, N., Jorda, G., Agusti, S., Girard, C., Duarte, C.M., 2015. Footprints of climate change on Mediterranean Sea biota. Front Mar Sci 2, 56. https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00056

Maricchiolo, G., Mirto, S., Caruso, G., Caruso, T., Bonaventura, R., Celi, M., Matranga, V., Genovese, L., 2011. Welfare status of cage farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A comparison between submerged and surface cages. Aquaculture 314, 173–181. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.001

Marn, N., Kooijman, S., 2022. The comparative energetics of the turtles and crocodiles. Ecol Evol 12, e8996. https://doi.org/10.1002/ece3.8996

Marques, G.M., Lika, K., Augustine, S., Pecquerie, L., Kooijman, S.A.L.M., 2019. Fitting multiple models to multiple data sets. J Sea Res 143, 48–56. https://doi.org/10.1016/j.seares.2018.07.004

Marras, S., Cucco, A., Antognarelli, F., Azzurro, E., Milazzo, M., Bariche, M., Butenschön, M., Kay, S., Di Bitetto, M., Quattrocchi, G., Sinerchia, M., Domenici, P., 2015. Predicting future thermal habitat suitability of competing native and invasive fish species: from metabolic scope to oceanographic modelling. Conserv Physiol 3, cou059. https://doi.org/10.1093/conphys/cou059

Martínez, E., Annia Alba, J.S., Vazquez, A.A., 2015. Changes in structure and composition of two communities of rocky shores molluscs exposed to different human impact in Playa Jibacoa, Cuba. J Ecosys Ecograph 5, 162–168. https://doi.org/10.4172/2157-7625.1000162

Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture 528, 735511. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511

Mateos, A., 2007. Una nueva especie para la acuicultura marina, la corvina (*Argyrosomus regius*). XI Congresso Nacional de Acuicultura 1.

Matthias, B.G., Ahrens, R.N.M., Allen, M.S., Tuten, T., Siders, Z.A., Wilson, K.L., 2018. Understanding the effects of density and environmental variability on the process of fish growth. Fish Res 198, 209–219. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.08.018

McCue, M.D., Terblanche, J.S., Benoit, J.B., 2017. Learning to starve: impacts of food limitation beyond the stress period. J Exp Biol 220, 4330–4338. https://doi.org/10.1242/jeb.157867

McKenzie, D.J., Zhang, Y., Eliason, E.J., Schulte, P.M., Claireaux, G., Blasco, F.R., Nati, J.J.H., Farrell, A.P., 2021. Intraspecific variation in tolerance of warming in fishes. J Fish Biol 98, 1536–1555. https://doi.org/10.1111/jfb.14620

Mesaa, S.G., Suárezb, M., Cerverac, M.R., Guerreroc, J.G., Gonzáleza, G., Cárdenasd, S., Gallegoa, M.G., 2014. Time course of muscle fatty acid composition of cultured meagre (*Argyrosomus regius*) during the first sixteen months of a cage culture. Grasas y Aceites 65, e006.

Millot, S., Cerqueira, M., Castanheira, M.-F., Øverli, Ø., Oliveira, R.F., Martins, C.I.M., 2014. Behavioural stress responses predict environmental perception in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). PLoS One 9, e108800. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108800

Mitchell, D.J., Fanson, B.G., Beckmann, C., Biro, P.A., 2016. Towards powerful experimental and statistical approaches to study intraindividual variability in labile traits. R Soc Open Sci 3, 160352. https://doi.org/10.1098/rsos.160352

Monfort, M.C., 2010. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture, General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM) - Studies and reviews. FAO, Rome, Italy.

Morales-Nin, B., Geffen, A.J., Pérez-Mayol, S., Palmer, M., González-Quirós, R., Grau, A., 2012. Seasonal and ontogenic migrations of meagre (*Argyrosomus regius*) determined by otolith geochemical signatures. Fish Res 127–128, 154–165. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2012.02.012

Morrongiello, J.R., Sweetman, P.C., Thresher, R.E., 2019. Fishing constrains phenotypic responses of marine fish to climate variability. J Anim Ecol 88, 1645–1656. https://doi.org/10.1111/1365-2656.12999 Moyano, M., Candebat, C., Ruhbaum, Y., Álvarez-Fernández, S., Claireaux, G., Zambonino-Infante, J.-L., Peck, M.A., 2017. Effects of warming rate, acclimation temperature and ontogeny on the critical thermal maximum of temperate marine fish larvae. PLoS One 12, e0179928. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179928

Murphy, B.K., Stinziano, J.R., 2021. A derivation error that affects carbon balance models exists in the current implementation of the modified Arrhenius function. New Phytol 231, 2371–2381. https://doi.org/10.1111/nph.16883

Mylonas, C.C., Mitrizakis, N., Papadaki, M., Sigelaki, I., 2013. Reproduction of hatcheryproduced meagre Argyrosomus regius in captivity. Description of the annual reproductive cycle. Aquaculture 414–415, 309–317. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.009

Nijhout, H.F., Best, J.A., Reed, M.C., 2015. Using mathematical models to understand metabolism, genes, and disease. BMC Biol 13, 79. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0189-2

Nisbet, R.M., Jusup, M., Klanjscek, T., Pecquerie, L., 2012. Integrating dynamic energy budget (DEB) theory with traditional bioenergetic models. J Exp Biol 215, 892–902. https://doi.org/10.1242/jeb.059675

Niu, Y., Xiang, Y., 2018. An overview of biomembrane functions in plant responses to high-temperature stress. Front plant science 9, 915. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00915

Nobre, A.M., Valente, L.M.P., Conceição, L., Severino, R., Lupatsch, I., 2019. A bioenergetic and protein flux model to simulate fish growth in commercial farms: Application to the gilthead seabream. Aquac Eng 84, 12–22. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.11.001

Norin, T., Clark, T.D., 2016. Measurement and relevance of maximum metabolic rate in fishes. J Fish Biol 88, 122–151. https://doi.org/10.1111/jfb.12796

Norin, T., Malte, H., Clark, T.D., 2014. Aerobic scope does not predict the performance of a tropical eurythermal fish at elevated temperatures. J Exp Biol 217, 244–251. https://doi.org/10.1242/jeb.089755

Nowakowski, A.J., Frishkoff, L.O., Agha, M., Todd, B.D., Scheffers, B.R., 2018. Changing thermal landscapes: merging climate science and landscape ecology through thermal biology. Curr Landscape Ecol Rep 3, 57–72. https://doi.org/10.1007/s40823-018-0034-8

O'Dea, R.E., Lagisz, M., Hendry, A.P., Nakagawa, S., 2019. Developmental temperature affects phenotypic means and variability: A meta-analysis of fish data. Fish Fish 20, 1005–1022. https://doi.org/10.1111/faf.12394 Oliver, E.C.J., Donat, M.G., Burrows, M.T., Moore, P.J., Smale, D.A., Alexander, L.V., Benthuysen, J.A., Feng, M., Sen Gupta, A., Hobday, A.J., Holbrook, N.J., Perkins-Kirkpatrick, S.E., Scannell, H.A., Straub, S.C., Wernberg, T., 2018. Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. Nat Commun 9, 1324. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03732-9

Osenberg, C.W., Schmitt, R.J., Holbrook, S.J., Abu-Saba, K.E., Flegal, A.R., 1994. Detection of environmental impacts: nat variability, effect size, and power analysis. Ecol App 4, 16–30. https://doi.org/10.2307/1942111

Ozolina, K., Shiels, H.A., Ollivier, H., Claireaux, G., 2016. Intraspecific individual variation of temperature tolerance associated with oxygen demand in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Conserv Physiol 4, cov060. https://doi.org/10.1093/conphys/cov060

Papandroulakis, N., Lika, K., Kristiansen, T.S., Oppedal, F., Divanach, P., Pavlidis, M., 2014. Behaviour of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., in cages – impact of early life rearing conditions and management. Aquac Res 45, 1545–1558. https://doi.org/10.1111/are.12103

Payne, N.L., Smith, J.A., van der Meulen, D.E., Taylor, M.D., Watanabe, Y.Y., Takahashi, A., Marzullo, T.A., Gray, C.A., Cadiou, G., Suthers, I.M., 2016. Temperature dependence of fish performance in the wild: links with species biogeography and physiological thermal tolerance. Funct Ecol 30, 903–912. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12618

Pecquerie, L., Petitgas, P., Kooijman, S.A.L.M., 2009. Modeling fish growth and reproduction in the context of the Dynamic Energy Budget theory to predict environmental impact on anchovy spawning duration. J Sea Res 62, 93–105. https://doi.org/10.1016/j.seares.2009.06.002

Peixoto, M.J., Salas-Leitón, E., Brito, F., Pereira, L.F., Svendsen, J.C., Baptista, T., Pereira, R., Abreu, H., Reis, P.A., Gonçalves, J.F.M., de Almeida Ozório, R.O., 2017. Effects of dietary Gracilaria sp. and Alaria sp. supplementation on growth performance, metabolic rates and health in meagre (*Argyrosomus regius*) subjected to pathogen infection. J Appl Phycol 29, 433–447. https://doi.org/10.1007/s10811-016-0917-1

Penny, F.M., Pavey, S.A., 2021. Increased acute thermal tolerance and little change to hematology following acclimation to warm water in juvenile Striped Bass, *Morone saxatilis*. Environ Biol Fish 104, 489–500. https://doi.org/10.1007/s10641-021-01088-6

Pereira, B.P., Vieira, M., Pousão-Ferreira, P., Candeias-Mendes, A., Barata, M., Fonseca, P.J., Amorim, M.C.P., 2020. Sound production in the Meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801):

intraspecific variability associated with size, sex and context. Peer J 8, e8559. https://doi.org/10.7717/peerj.8559

Peres, H., Santos, S., Oliva-Teles, A., 2014. Blood chemistry profile as indicator of nutritional status in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Physiol Biochem 40, 1339–1347. https://doi.org/10.1007/s10695-014-9928-5

Perkins, S.E., Alexander, L.V., Nairn, J.R., 2012. Increasing frequency, intensity and duration of observed global heatwaves and warm spells. Geophys Res Lett 39, L20714. https://doi.org/10.1029/2012GL053361

Person-Le Ruyet, J., Mahé, K., Le Bayon, N., Le Delliou, H., 2004. Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 237, 269–280. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.021

Peterson, M.E., Daniel, R.M., Danson, M.J., Eisenthal, R., 2007. The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters. Biochem J 403, 615–615. https://doi.org/10.1042/BJ4030615u

Petitjean, Q., Jean, S., Gandar, A., Côte, J., Laffaille, P., Jacquin, L., 2019. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes. Sci Tot Environ 684, 371–380. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.357

Pham, T.T.T., Friðriksdóttir, R., Weber, C.T., Viðarsson, J.R., Papandroulakis, N., Baudron, A.R., Olsen, P., Hansen, J.A., Laksá, U., Fernandes, P.G., Bahri, T., Ragnarsson, S.Ö., Aschan, M., 2021. Guidelines for co-creating climate adaptation plans for fisheries and aquaculture. Clim Change 164, 62. https://doi.org/10.1007/s10584-021-03041-z

Poli, B.M., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M., Lupi, P., Bonelli, A., 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. Aquac Int 11, 301–311. https://doi.org/10.1023/A:1024840804303

Pörtner, H., 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. Naturwissenschaften 88, 137–146. https://doi.org/10.1007/s001140100216

Pörtner, H.-O., Bock, C., Mark, F.C., 2017. Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance: bridging ecology and physiology. J Exp Biol 220, 2685–2696. https://doi.org/10.1242/jeb.134585 Price, C.A., Weitz, J.S., Savage, V.M., Stegen, J., Clarke, A., Coomes, D.A., Dodds, P.S., Etienne, R.S., Kerkhoff, A.J., McCulloh, K., Niklas, K.J., Olff, H., Swenson, N.G., 2012. Testing the metabolic theory of ecology. Ecol Lett 15, 1465–1474. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01860.x

Rajaguru, S., 2002. Critical thermal maximum of seven estuarine fishes. J Therm Biol 27, 125–128. https://doi.org/10.1016/S0306-4565(01)00026-2

Ramsay, D.S., Woods, S.C., 2014. Clarifying the roles of homeostasis and allostasis in physiological regulation. Psychol Rev 121, 225–247. https://doi.org/10.1037/a0035942

Razavi, S., Gupta, H.V., 2015. What do we mean by sensitivity analysis? The need for comprehensive characterization of "global" sensitivity in Earth and Environmental systems models. Water Resour Res 51, 3070–3092. https://doi.org/10.1002/2014WR016527

Regan, M.D., Dhillon, R.S., Toews, D.P.L., Speers-Roesch, B., Sackville, M.A., Pinto, S., Bystriansky, J.S., Scott, G.R., 2015. Biochemical correlates of aggressive behavior in the Siamese fighting fish. J Zoo 297, 99–107. https://doi.org/10.1111/jzo.12259

Reid, A.J., Carlson, A.K., Creed, I.F., Eliason, E.J., Gell, P.A., Johnson, P.T.J., Kidd, K.A., MacCormack, T.J., Olden, J.D., Ormerod, S.J., Smol, J.P., Taylor, W.W., Tockner, K., Vermaire, J.C., Dudgeon, D., Cooke, S.J., 2019. Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. Biol Rev 94, 849–873. https://doi.org/10.1111/brv.12480

Ren, J.S., Jin, X., Yang, T., Kooijman, S.A.L.M., Shan, X., 2020. A dynamic energy budget model for small yellow croaker *Larimichthys polyactis*: Parameterisation and application in its main geographic distribution waters. Ecol Model 427, 109051. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109051

Rezende, E.L., Castañeda, L.E., Santos, M., 2014. Tolerance landscapes in thermal ecology. Funct Ecol 28, 799–809. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12268

Riera-Heredia, N., Sánchez-Moya, A., Balbuena-Pecino, S., Fontanillas, R., Gutiérrez, J., Capilla, E., Navarro, I., 2020. The combination of palm and rapeseed oils emerges as a good dietary alternative for optimal growth and balanced lipid accumulation in juvenile gilthead sea bream reared at an elevated temperature. Aquaculture 526, 735396. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735396 Roberts, R.J., Agius, C., Saliba, C., Bossier, P., Sung, Y.Y., 2010. Heat shock proteins (chaperones) in fish and shellfish and their potential role in relation to fish health: a review. J Fish Dis 33, 789–801. https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2010.01183.x

Rohatgi, A., 2021. Webplotdigitizer: Version 4.5.

Rosa, R., Marques, A., Nunes, M., 2012. Impact of climate change in Mediterranean aquaculture. Rev Aquac 4, 163–177. https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01071.x

Rossi, A., Bacchetta, C., Cazenave, J., 2017. Effect of thermal stress on metabolic and oxidative stress biomarkers of *Hoplosternum littorale* (Teleostei, Callichthyidae). Ecol Indic 79, 361–370. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.04.042

Rubalcaba, J.G., Verberk, W.C.E.P., Hendriks, A.J., Saris, B., Woods, H.A., 2020. Oxygen limitation may affect the temperature and size dependence of metabolism in aquatic ectotherms. Proc Nat Acad Sci 117, 31963–31968. https://doi.org/10.1073/pnas.2003292117

Sakalli, A., 2017. Sea surface temperature change in the Mediterranean Sea under climate change: a linear model for simulation of the sea surface temperature up to 2100. Appl Ecol Env Res 15, 707–716. https://doi.org/10.15666/aeer/1501\_707716

Sakurai, G., Takahashi, S., Yoshida, Y., Yoshida, H., Shoji, J., Tomiyama, T., 2021. Importance of experienced thermal history: Effect of acclimation temperatures on the hightemperature tolerance and growth performance of juvenile marbled flounder. J Therm Bio 97, 102831. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102831

Samaras, A., Dimitroglou, A., Sarropoulou, E., Papaharisis, L., Kottaras, L., Pavlidis, M., 2016a. Repeatability of cortisol stress response in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and transcription differences between individuals with divergent responses. Sci Rep 6, 34858. https://doi.org/10.1038/srep34858

Samaras, A., Papandroulakis, N., Costari, M., Pavlidis, M., 2016b. 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. Aquac Res 47, 3501–3515. https://doi.org/10.1111/are.12800

Santos, M., Castañeda, L.E., Rezende, E.L., 2011. Making sense of heat tolerance estimates in ectotherms: lessons from *Drosophila*. Funct Ecol 25, 1169–1180. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01908.x
Sarà, G., Gouhier, T.C., Brigolin, D., Porporato, E.M.D., Mangano, M.C., Mirto, S., Mazzola, A., Pastres, R., 2018. Predicting shifting sustainability trade-offs in marine finfish aquaculture under climate change. Glob Chang Biol 24, 3654–3665. https://doi.org/10.1111/gcb.14296

Schiettekatte, N.M.D., Barneche, D.R., Villéger, S., Allgeier, J.E., Burkepile, D.E., Brandl, S.J., Casey, J.M., Mercière, A., Munsterman, K.S., Morat, F., Parravicini, V., 2020. Nutrient limitation, bioenergetics and stoichiometry: A new model to predict elemental fluxes mediated by fishes. Funct Ecol 34, 1857–1869. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13618

Schneider, W., 1990. Field guide to the commercial marine resources of the Gulf of Guinea. FAO.

Schrama, J.W., Haidar, M.N., Geurden, I., Heinsbroek, L.T.N., Kaushik, S.J., 2018. Energy efficiency of digestible protein, fat and carbohydrate utilisation for growth in rainbow trout and Nile tilapia. Br J Nutr 119, 782–791. https://doi.org/10.1017/S0007114518000259

Schreck, C.B., Tort, L., 2016. 1 - The concept of stress in fish, in: Schreck, C.B., Tort, L., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), Fish physiology, biology of stress in fish. Academic Press, pp. 1–34. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1

Serpa, D., Ferreira, P.P., Ferreira, H., da Fonseca, L.C., Dinis, M.T., Duarte, P., 2013. Modelling the growth of white seabream (*Diplodus sargus*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) in semi-intensive earth production ponds using the Dynamic Energy Budget approach. J Sea Res 76, 135–145. https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.08.003

Shah, A.A., Woods, H.A., Havird, J.C., Encalada, A.C., Flecker, A.S., Funk, W.C., Guayasamin, J.M., Kondratieff, B.C., Poff, N.L., Thomas, S.A., Zamudio, K.R., Ghalambor, C.K., 2021. Temperature dependence of metabolic rate in tropical and temperate aquatic insects: Support for the Climate Variability Hypothesis in mayflies but not stoneflies. Glob Chang Biol 27, 297–311. https://doi.org/10.1111/gcb.15400

Shahjahan, M., Uddin, M.H., Bain, V., Haque, M.M., 2018. Increased water temperature altered hemato-biochemical parameters and structure of peripheral erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. Fish Physiol Biochem 44, 1309–1318. https://doi.org/10.1007/s10695-018-0522-0

Shaltout, M., Omstedt, A., 2014. Recent sea surface temperature trends and future scenarios for the Mediterranean Sea. Oceanologia 56, 411–443. https://doi.org/10.5697/oc.56-3.411

Sharpe, P.J.H., DeMichele, D.W., 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. J Theor Biol 64, 649–670. https://doi.org/10.1016/0022-5193(77)90265-X

Siepmann, J., Siepmann, F., 2008. Mathematical modeling of drug delivery. Int J Pharm 364, 328–343. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.09.004

Silva, T.S. de C., Santos, L.D. dos, Silva, L.C.R. da, Michelato, M., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2015. Length-weight relationship and prediction equations of body composition for growing-finishing cage-farmed Nile tilapia. R. Bras. Zootec. 44, 133–137. https://doi.org/10.1590/S1806-92902015000400001

Singh, M., 2022. Incorporating vascular-stasis based blood perfusion to evaluate the thermal signatures of cell-death using modified Arrhenius Equation with regeneration of living tissues during nanoparticle-assisted thermal therapy (SSRN Scholarly Paper No. ID 4043662). Social Science Research Network, Rochester, NY. https://doi.org/10.2139/ssrn.4043662

Sinha, A.K., AbdElgawad, H., Zinta, G., Dasan, A.F., Rasoloniriana, R., Asard, H., Blust, R., Boeck, G.D., 2015. Nutritional status as the key modulator of antioxidant responses induced by high environmental ammonia and salinity stress in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). PLoS One 10, e0135091. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135091

Skliris, N., Sofianos, S., Gkanasos, A., Mantziafou, A., Vervatis, V., Axaopoulos, P., Lascaratos, A., 2012. Decadal scale variability of sea surface temperature in the Mediterranean Sea in relation to atmospheric variability. Ocean Dyn 62, 13–30. https://doi.org/10.1007/s10236-011-0493-5

Smale, D.A., Wernberg, T., Oliver, E.C.J., Thomsen, M., Harvey, B.P., Straub, S.C., Burrows, M.T., Alexander, L.V., Benthuysen, J.A., Donat, M.G., Feng, M., Hobday, A.J., Holbrook, N.J., Perkins-Kirkpatrick, S.E., Scannell, H.A., Sen Gupta, A., Payne, B.L., Moore, P.J., 2019. Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. Nat. Clim. Chang. 9, 306–312. https://doi.org/10.1038/s41558-019-0412-1

Smith, K.E., Burrows, M.T., Hobday, A.J., Sen Gupta, A., Moore, P.J., Thomsen, M., Wernberg, T., Smale, D.A., 2021. Socioeconomic impacts of marine heatwaves: Global issues and opportunities. Science 374, eabj3593. https://doi.org/10.1126/science.abj3593

Sokolova, I.M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G., Sukhotin, A.A., 2012. Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. Mar Environ Res79, 1–15. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.04.003

Somero, G.N., 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers.' J Exp Biol 213, 912–920. https://doi.org/10.1242/jeb.037473

Somero, G.N., 2004. Adaptation of enzymes to temperature: searching for basic "strategies." Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 139, 321–333. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.05.003

Stavrakidis-Zachou, O., Lika, K., Anastasiadis, P., Papandroulakis, N., 2021a. Projecting climate change impacts on Mediterranean finfish production: a case study in Greece. Clim Change 165, 67. https://doi.org/10.1007/s10584-021-03096-y

Stavrakidis-Zachou, O., Lika, K., Pavlidis M., Tsalafouta, A., Asaad, M.H., Nikos, P., 2021b. Thermal tolerance, metabolic scope and performance of meagre, *Argyrosomus regius*, reared under high water temperatures. J Therm Biol 100, 103063. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103063

Stavrakidis-Zachou, O., Papandroulakis, N., Lika, K., 2019. A DEB model for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Parameterisation and application in aquaculture. J Sea Res 143, 262–271. https://doi.org/10.1016/j.seares.2018.05.008

Stavrakidis-Zachou, O., Papandroulakis, N., Sturm, A., Anastasiadis, P., Wätzold, F., Lika, K., 2018. Towards a computer-based decision support system for aquaculture stakeholders in Greece in the context of climate change. Int J Sust Agric Manag Inf 4, 219–234. https://doi.org/10.1504/IJSAMI.2018.099235

Stavrakidis-Zachou, O., Sturm, A., Lika, K., Wätzold, F., Papandroulakis, N., 2021c. ClimeGreAq: A software-based DSS for the climate change adaptation of Greek aquaculture. Environ Model Soft 143, 105121. https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2021.105121

Stavrakidis-Zachou, O., Lika, K., Pavlidis, M., Asaad, M.H., Papandroulakis, N., 2022. Metabolic scope, performance and tolerance of juvenile European sea bass *Dicentrarchus labrax* upon acclimation to high temperatures. PLoS One 17(8): e0272510. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272510 Stergiou, K.I., Somarakis, S., Triantafyllou, G., Tsiaras, K.P., Giannoulaki, M., Petihakis, G., Machias, A., Tsikliras, A.C., 2016. Trends in productivity and biomass yields in the Mediterranean Sea Large Marine Ecosystem during climate change. Environ Dev 17, 57–74. https://doi.org/10.1016/j.envdev.2015.09.001

Stirling, H.P., 1976. Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass *Dicentrarchus labrax*. Mar. Biol. 34, 85–91. https://doi.org/10.1007/BF00390791

Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M. M. B., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P. M. (eds.), 2014. Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of IPCC the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press. http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324

Sunday, J., Bennett, J.M., Calosi, P., Clusella-Trullas, S., Gravel, S., Hargreaves, A.L., Leiva, F.P., Verberk, W.C.E.P., Olalla-Tárraga, M.Á., Morales-Castilla, I., 2019. Thermal tolerance patterns across latitude and elevation. Philos Trans R Soc B Biol Sci 374, 20190036. https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0036

Tavares-Dias, M., Oliveira, S., 2009. A review of the blood coagulation system of fish. Braz J Biosci 7, 205–224.

Tebaldi, C., Debeire, K., Eyring, V., Fischer, E., Fyfe, J., Friedlingstein, P., Knutti, R., Lowe, J., O'Neill, B., Sanderson, B., van Vuuren, D., Riahi, K., Meinshausen, M., Nicholls, Z., Tokarska, K.B., Hurtt, G., Kriegler, E., Lamarque, J.-F., Meehl, G., Moss, R., Bauer, S.E., Boucher, O., Brovkin, V., Byun, Y.-H., Dix, M., Gualdi, S., Guo, H., John, J.G., Kharin, S., Kim, Y., Koshiro, T., Ma, L., Olivié, D., Panickal, S., Qiao, F., Rong, X., Rosenbloom, N., Schupfner, M., Séférian, R., Sellar, A., Semmler, T., Shi, X., Song, Z., Steger, C., Stouffer, R., Swart, N., Tachiiri, K., Tang, Q., Tatebe, H., Voldoire, A., Volodin, E., Wyser, K., Xin, X., Yang, S., Yu, Y., Ziehn, T., 2021. Climate model projections from the Scenario Model Intercomparison Project (ScenarioMIP) of CMIP6. Earth Syst Dyn 12, 253–293. https://doi.org/10.5194/esd-12-253-2021

Teixeira, C.M.G.L., 2016. Application of Dynamic Energy Budget theory for conservation relevant modelling of Bird life histories. PhD thesis, Vrije Universiteit Amsterdam.

Teles, A., Lupatsch, I., Nengas, I., 2011. Chapter 7: nutrition and feedling of Sparidae, in: Pavlidis, M.A., Mylonas, C.C. (eds), Sparidae: Biology and aquaculture of gilthead seabream and other species. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK.

Tercero, A.D., Place, S.P., 2020. Characterizing gene copy number of heat shock protein gene families in the emerald rockcod, *Trematomus bernacchii*. Genes 11, 867. https://doi.org/10.3390/genes11080867

Teske, S. (ed), 2019. Achieving the Paris climate agreement goals: global and regional 100% renewable energy scenarios with non-energy GHG pathways for +1.5°C and +2°C. Springer International Publishing, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05843-2

Thornley, J.H.M., France, J., 2007. Mathematical models in agriculture: quantitative methods for the plant, animal and ecological sciences. CABI.

Tirsgaard, B., Svendsen, J.C., Steffensen, J.F., 2015. Effects of temperature on specific dynamic action in Atlantic cod *Gadus morhua*. Fish Physiol Biochem 41, 41–50. https://doi.org/10.1007/s10695-014-0004-y

Topal, A., Özdemir, S., Arslan, H., Çomaklı, S., 2021. How does elevated water temperature affect fish brain? (A neurophysiological and experimental study: Assessment of brain derived neurotrophic factor, cFOS, apoptotic genes, heat shock genes, ER-stress genes and oxidative stress genes). Fish Shellfish Immunol 115, 198–204. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.05.002

Torabizadeh, H., 2011. All proteins have a basic molecular formula. World Acad Sci Eng Technol 78, 961–965.

Turko, A.J., Nolan, C.B., Balshine, S., Scott, G.R., Pitcher, T.E., 2020. Thermal tolerance depends on season, age and body condition in imperilled redside dace *Clinostomus elongatus*. Conserv Physiol 8, coaa062. https://doi.org/10.1093/conphys/coaa062

van Vuuren, D.P., Edmonds, J., Kainuma, M., Riahi, K., Thomson, A., Hibbard, K., Hurtt, G.C., Kram, T., Krey, V., Lamarque, J.-F., Masui, T., Meinshausen, M., Nakicenovic, N., Smith, S.J., Rose, S.K., 2011. The representative concentration pathways: an overview. Clim Change 109, 5–31. https://doi.org/10.1007/s10584-011-0148-z

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Roy, N., De Paepe, A., Speleman, F., 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol 3, research0034.1.

Varga, M., Berzi-Nagy, L., Csukas, B., Gyalog, G., 2020. Long-term dynamic simulation of environmental impacts on ecosystem-based pond aquaculture. Environ Model Soft 134, 104755. https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2020.104755

Vargas-Chacoff, L., Ruiz-Jarabo, I., Páscoa, M., Gonçalves, O., Mancera, J., 2014. Yearly growth and metabolic changes in earthen pond-cultured meagre *Argyrosomus regius*. Sci Mar 78, 193–202. https://doi.org/10.3989/scimar.03965.06B

Vázquez, F.J.S., Muñoz-Cueto, J.A., 2014. Biology of European sea bass. CRC Press. Boca Raton.

Venolia, C.T., Lavaud, R., Green-Gavrielidis, L.A., Thornber, C., Humphries, A.T., 2020. Modeling the growth of sugar kelp (Saccharina latissima) in aquaculture systems using Dynamic Energy Budget Theory. Ecol Model 430, 109151. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109151

Verberk, W., Overgaard, J., Ern, R., Bayley, M., Wang, T., Boardman, L., Terblanche, J., 2016. Does oxygen limit thermal tolerance in arthropods? A critical review of current evidence. Comp Biochem Physiol A Physiology 192, 64–78. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.10.020

Vlaeminck, K., Viaene, K.P.J., Van Sprang, P., De Schamphelaere, K.A.C., 2021. Development and validation of a mixture toxicity implementation in the Dynamic Energy Budget– Individual-Based Model: Effects of copper and zinc on *Daphnia magna* populations. Environ Toxicol Chem 40, 513–527. https://doi.org/10.1002/etc.4946

Waheed, R., El Asely, A.M., Bakery, H., El-Shawarby, R., Abuo-Salem, M., Abdel-Aleem, N., Malhat, F., Khafaga, A., Abdeen, A., 2020. Thermal stress accelerates mercury chloride toxicity in Oreochromis niloticus via up-regulation of mercury bioaccumulation and HSP70 mRNA expression. Sci Tot Environ 718, 137326. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137326

Waldock, C., Dornelas, M., Bates, A.E., 2018. Temperature-driven biodiversity change: disentangling space and time. BioScience 68, 873–884. https://doi.org/10.1093/biosci/biy096

Wang, Y., Han, G., Pham, C.V., Koyanagi, K., Song, Y., Sudo, R., Lauwereyns, J., Cockrem, J.F., Furuse, M., Chowdhury, V.S., 2019. An acute increase in water temperature can increase free amino acid concentrations in the blood, brain, liver, and muscle in goldfish (*Carassius auratus*). Fish Physiol Biochem 45, 1343–1354. https://doi.org/10.1007/s10695-019-00642-5

Weiskopf, S.R., Rubenstein, M.A., Crozier, L.G., Gaichas, S., Griffis, R., Halofsky, J.E., Hyde, K.J.W., Morelli, T.L., Morisette, J.T., Muñoz, R.C., Pershing, A.J., Peterson, D.L., Poudel, R., Staudinger, M.D., Sutton-Grier, A.E., Thompson, L., Vose, J., Weltzin, J.F., Whyte, K.P., 2020. Climate change effects on biodiversity, ecosystems, ecosystem services, and natural resource management in the United States. Sci Tot Environ 733, 137782. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137782

Wootton, H.F., Morrongiello, J.R., Schmitt, T., Audzijonyte, A., 2022. Smaller adult fish size in warmer water is not explained by elevated metabolism. Ecol Lett 25, 1177–1188. https://doi.org/10.1111/ele.13989

Yanar, M., Erdoğan, E., Kumlu, M., 2019. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish species. Aquaculture 501, 382–386. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.041

Yang, S., Yang, X., Li, Y., Li, D., Gong, Q., Huang, X., Wu, J., Huang, A., Kong, F., Han, X., Zeng, X., Zhang, C., Du, J., Du, X., 2021. The multilevel responses of *Acipenser baerii* and its hybrids (*A. baerii*  $\mathcal{Q} \times A$ . *schrenckii*  $\mathcal{J}$ ) to chronic heat stress. Aquaculture 541, 736773. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736773

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

Young, T., Walker, S.P., Alfaro, A.C., Fletcher, L.M., Murray, J.S., Lulijwa, R., Symonds, J., 2019. Impact of acute handling stress, anaesthesia, and euthanasia on fish plasma biochemistry: implications for veterinary screening and metabolomic sampling. Fish Physiol Biochem 45, 1485–1494. https://doi.org/10.1007/s10695-019-00669-8

Yousefi, M., Paktinat, M., Mahmoudi, N., Pérez-Jiménez, A., Hoseini, S.M., 2016. Serum biochemical and non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to dietary nucleotide and chronic stress. Fish Physiol Biochem 42, 1417–1425. https://doi.org/10.1007/s10695-016-0229-z

Yuan, M., Li, X., Long, T., Chen, Y., Lu, W., 2020. Dynamic responses of the caudal neurosecretory system (CNSS) under thermal stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Front Physiol 10, 1664-042X. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01560

Zanuy, S., Carrillo, M., 1985. Annual cycles of growth, feeding rate, gross conversion efficiency and hematocrit levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) adapted to two different osmotic media. Aquaculture 44, 11–25. https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90038-9

Zavala, E., Wedgwood, K.C.A., Voliotis, M., Tabak, J., Spiga, F., Lightman, S.L., Tsaneva-Atanasova, K., 2019. Mathematical modelling of endocrine systems. Trends Endocrin & Met 30, 244–257. https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.01.008

Zhang, Y., Mauduit, F., Farrell, A.P., Chabot, D., Ollivier, H., Rio-Cabello, A., Le Floch, S., Claireaux, G., 2017. Exposure of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to chemically dispersed oil has a chronic residual effect on hypoxia tolerance but not aerobic scope. Aquatic Toxicol 191, 95–104. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.07.020

Zhou, C., Xu, D., Lin, K., Sun, C., Yang, X., 2018. Intelligent feeding control methods in aquaculture with an emphasis on fish: a review. Rev Aquac 10, 975–993. https://doi.org/10.1111/raq.12218

Zhou, L.-Y., Fu, S.-J., Fu, C., Ling, H., Li, X.-M., 2019. Effects of acclimation temperature on the thermal tolerance, hypoxia tolerance and swimming performance of two endangered fish species in China. J Comp Physiol B 189, 237–247. https://doi.org/10.1007/s00360-018-01201-9

Zhou, Z., Xie, S., Lei, W., Zhu, X., Yang, Y., 2005. A bioenergetic model to estimate feed requirement of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. Aquaculture 248, 287–297. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.011

ΣΕΘ, 2020. Ελληνική Υδατοκαλλιέργεια 2020. Ετήσια Έκθεση.